



**Fabiana
Correia Pinto
da Silva**

**Estudo da pasteurização por alta pressão de
alimentos**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química, realizada sob a orientação científica do Doutor Jorge Manuel Alexandre Saraiva, Investigador Auxiliar do Departamento Química da Universidade de Aveiro e da Mestre Pilar Filipa Ribeiro Valinhas Morais, Diretora do Departamento de Investigação, Desenvolvimento e Inovação da Frulact, S.A..

À minha mãe.
Por não me ter deixado desistir.

o júri

Presidente

Prof. Doutor Dmitry Victorovitch Evtyugin
Professor associado com agregação da Universidade de Aveiro

Mestre Pilar Filipa Ribeiro Valinhas Morais
Diretora Geral de Investigação, Desenvolvimento e Inovação da Frulact, S.A.

Doutora Sónia Marília de Almeida e Castro
Investigadora do Centro de Biotecnologia e Química Fina da Universidade Católica Portuguesa

agradecimentos

Gostaria de agradecer ao meu orientador, o Prof. Jorge Saraiva, pelo apoio, disponibilidade e ajuda ao longo desta dissertação.

À Engenheira Pilar Morais, minha orientadora na Frulact, pelo apoio, compreensão, confiança e simpatia que sempre teve comigo.

À Frulact pela forma como me recebeu e acolheu nestes meses de trabalho e por ter possibilitado a realização deste trabalho.

À Helena pela incessante ajuda e disponibilidade, o meu muito obrigada.

À minha Cristina, por tudo o que me ensinou e ajudou, mas também pelas conversas, risos, momentos e amizade que partilhamos. Sem dúvida que sem o seu ânimo e alegria esta jornada não teria sido a mesma.

Agradeço a todas as pessoas com quem tive o prazer de conviver na Frulact, em especial à Débora, ao Celestino, ao Paulico, à Maria Ana e à Catarina que me ajudaram e apoiaram sempre que precisei, agradeço também ao Rui Queirós pela disponibilidade e por toda a ajuda.

A todos os docentes com quem tive oportunidade de me cruzar durante a minha formação académica, em especial à Professora Inês Portugal, ao Professor Carlos Silva, ao Professor Dmitry Evtugin e ao Professor Avelino Freitas.

Gostaria de agradecer às minhas queridas amigas Catarina e Margarida pela confiança, alegria, carinho, apoio, compreensão e pela amizade incondicional durante todos estes anos.

Aos meus padrinhos que sempre me apoiaram e incentivaram durante este percurso.

À minha avó por todo o amor e carinho. Obrigada por teres sempre acreditado em mim, incentivando a minha formação, e também por todos os momentos que partilhaste comigo.

À minha mãe e irmão por todo o amor, compreensão e apoio incondicional. Obrigada por terem estado sempre ao meu lado durante toda a minha vida. Quero agradecer especialmente à minha mãe que tudo fez e faz por mim.

Por fim, quero agradecer ao Jorge, pelo amor, pelo carinho, por todos os momentos em que me amparou e incentivou e especialmente por fazer parte da minha vida.

palavras-chave

Processamento por alta pressão, bebida de vinagre de cereja, pedaços de morango em calda de açúcar acidificada, carga microbiológica, cloreto de cálcio, infusão

resumo

Os consumidores requerem cada vez mais produtos com as características visuais, sensoriais e nutricionais de produtos frescos, livres de aditivos. A Tecnologia de Alta Pressão Hidrostática (APH) permite obter produtos alimentares seguros sem detrimento das suas características sensoriais e de compostos bioativos. A Frulact é uma empresa com uma forte vertente de investigação, desenvolvimento e inovação, sendo que tem apresentado vários produtos inovadores. Nesse sentido, foram analisados dois produtos processados em APH, uma bebida de vinagre de cereja e um produto à base de pedaços de morango para aplicação em iogurte.

Foi realizada uma comparação entre processamento térmico e em APH (550 MPa por 5 minutos) para a bebida de vinagre de cereja em estudo e o impacto da temperatura de armazenamento (6 °C e 20 °C). O impacto da adição de metabissulfito de sódio foi também analisado. Para o desenvolvimento do produto à base de pedaços de morango foram realizados três estudos que visaram verificar o efeito dos dias de infusão nos pedaços de morango e uma calda de açúcar acidificada, da adição de cloreto de cálcio e ainda do binómio de processamento (pressão/tempo) na carga microbiológica. O impacto da congelação foi também analisado. Foi ainda comparada a infusão do produto à base de pedaços de morango com e sem alta pressão (450 MPa por 5 minutos).

A APH permitiu aumentar a vida útil dos dois produtos em comparação com os métodos de produção convencional (90 °C por 5 minutos para a bebida de vinagre e sem tratamento térmico para o produto à base de pedaços de morango). O processamento em APH da bebida de vinagre de cereja permitiu reduzir a degradação de cor ao longo do tempo de armazenamento. Não se verificaram efeitos da adição de cálcio após processamento na carga microbiológica dos pedaços de morango. Diferenças em relação à firmeza dos pedaços de morango foram verificadas sensorialmente para o produto com adição de cálcio e com aumento dos dias de infusão. Os binómios de processamento em estudo não aparentaram diferenças na carga microbiológica (com aparente manutenção da carga com o tempo), nem nos parâmetros físico-químicos analisados. A aparência dos pedaços de morango da infusão por alta pressão foi alterada em comparação com a infusão à pressão atmosférica.

keywords

High pressure processing, cherry vinegar drink, strawberries pieces in a acidified sugar syrup, microbial load, calcium chloride, infusion

abstract

Consumers increasingly require products with visual, sensory and nutritional properties of fresh products, free from additives. The High Hydrostatic Pressure Technology (HPP) allows to obtain safe food products without the detriment of their sensory characteristics and bioactive compounds. Frulact is a company with a strong element of research, development and innovation, and has presented several innovative products. Two products were analyzed in high pressure technology, a cherry vinegar drink and a product made of strawberry pieces in a acidified sugar syrup for application in yoghurt.

A comparison between thermal processing and HPP (550 MPa for 5 minutes) was performed for the cherry vinegar drink study and also the impact of storage temperature (6 °C e 20 °C). The impact of the addition of sodium metabisulfite was also examined. For the development of the product based on strawberry pieces were carried out three studies which allowed to verify the effect of the number of infusion days between strawberry pieces and acidified sugar syrup, of adding calcium chloride and also the processing binomial (pressure/time) on the microbiological load. The impact of freezing was also analyzed. It was also compared the infusion of the strawberry pieces with and without high pressure (450 MPa for 5min).

The high pressure processing increased the shelf-life of the two products compared with conventional production methods (90 °C for 5 minutes for the vinegar drink and no heat treatment for the product based on strawberry pieces). The processing HPP cherry vinegar beverage has reduced color degradation over the storage time. There were no effects of adding calcium following processing on the microbiological load. Were reported differences in the firmness of the strawberry pieces with addition of calcium and with more days of infusion. The binomials of processing in study did not shown differences in the microbial load (with apparent maintenance charge over time), or in physic-chemical parameters analyzed. The appearance of strawberry pieces for high pressure infusion was changed as compared with infusion at atmospheric pressure.

Índice

1. Frulact.....	1
2. Introdução.....	3
3. Revisão da Literatura.....	5
3.1. O Morango	5
3.2. O Vinagre	6
3.3. A Pasteurização Térmica	7
3.4. O Processamento em Alta Pressão	7
3.4.1. Processamento.....	8
3.5. Efeitos da Alta Pressão	9
3.5.1. Microrganismos	9
3.5.2. Proteínas	10
3.5.3. Antocianinas e Enzimas	11
3.5.4. Vitaminas.....	12
3.6. Fatores que influenciam o Processamento em Alta Pressão	13
3.7. Efeito do Cálcio.....	13
3.8. Regulamentação	16
4. Análise de Mercado.....	17
4.1 Produtos Processados em Alta Pressão.....	17
4.2 Produtos à base de Vinagre	20
5. Objetivos	21
6. Materiais e Métodos	23
6.1. Bebida de Vinagre	23
6.1.1. Processamento e armazenamento	23
6.1.2. Avaliação da qualidade.....	23
6.2. Produto à base de pedaços de morango	24
6.2.1. Processamento e armazenamento	24
6.2.2. Avaliação da qualidade.....	25
6.3. Determinações analíticas	26

6.4. Análise Estatística	28
7. Resultados e Discussão	29
7.1. Bebida de vinagre de cereja.....	29
7.2. Produto à base de pedaços de morango	35
7.2.1. Parâmetros Físico-Químicos.....	35
7.2.2. Microbiologia	38
7.2.3 Dias de infusão	41
7.2.4. Cálcio	43
7.2.5. Amostras sob congelação	45
7.2.6. Validação de resultados obtidos	47
7.2.7. Infusão em APH	51
8. Conclusão	53
9. Referências Bibliográficas.....	55
10. Anexos.....	i

Índice de Figuras

Figura 1: Exemplos de produtos processados em APH no mercado nacional	18
Figura 2: Exemplos de smoothies processados em APH no mercado internacional	18
Figura 3: Exemplos de iogurtes processados em APH.....	19
Figura 4: Produtos inovadores processados em APH.....	19
Figura 5: Bebidas à base de vinagre	20
Figura 6: Resultados dos parâmetros ‘Apreciação Global’ e ‘Sabor’ da análise sensorial ..	30
Figura 7: Resultados dos parâmetros ‘Aparência/Aspetto’ e ‘Cor’ da análise sensorial	30
Figura 8: Evolução das coordenadas a^* e C^* ao longo do tempo para a bebida de vinagre de cereja	31
Figura 9: Variação total da cor para processamento convencional (A) e em APH (B) da bebida de vinagre de cereja.....	32
Figura 10: Amostras convencionais e em APH armazenadas a 6 °C e 20 °C da bebida de vinagre de cereja aos 120 dias de armazenamento	33
Figura 11: Amostra convencional (esquerda) e processada em APH (direita) no último mês de amostragem (7 meses)	33
Figura 12: Variação total da cor do controlo e da bebida de vinagre de cereja com metabisulfito de sódio.....	34
Figura 13: Binómios em estudo para a formulação 1x0.....	36
Figura 14: Comparação da cor entre controlos e binómios de processamento.....	37
Figura 15: Calda da amostra sem processamento e com processamento em APH	37
Figura 16: Evolução da carga mesófila total (A,C,E) e aeróbia esporulada (B,D,F) dos binómios do estudo ‘Microbiologia’ e respetivos controlos de formulação em estudo (formulação 0x0 - A,B; formulação 1x0 - C,D; formulação 1x1 - E,F)	40
Figura 17: Evolução da carga de bolores e leveduras para os controlos de formulações em estudo	41
Figura 18: Efeito dos dias de infusão na firmeza dos pedaços de morango	42
Figura 19: Efeito dos dias de infusão na carga mesófila total e aeróbica esporulada	43
Figura 20: Efeito do Cálcio na firmeza dos pedaços de morango	44
Figura 21: Efeito do Cálcio na carga mesófila total e aeróbica esporulada.....	45
Figura 22: Efeito da congelação na carga mesófila total (A), de bolores e leveduras (B) e de mesófilos aeróbios esporulados (C)	46
Figura 23: Efeito da congelação na firmeza do produto à base de pedaços de morango	47
Figura 24: Evolução da carga mesófila total (A,D) de bolores e leveduras (B,E) e de mesófilos anaeróbios (C,F) das formulações e binómios em estudo	48

Figura 25:Evolução da firmeza dos pedaços de morango para as formulações e binómios em estudo	49
Figura 26:Aparência dos controlos das formulações e respetivos binómios de processamento	49
Figura 27:Comparação de dois tipos de armazenamento (típico e em tubos de Falcon, T.F.) das amostras em estudo	51
Figura 28:Evolução da carga de mesófilos totais, anaeróbios e de bolores e leveduras do produto com infusão em APH.....	51
Figura 29:Evolução da firmeza do produto com infusão em APH.....	52
Figura 30:Aparência do produto com infusão em APH aos 15 dias de armazenamento	52

Índice de Tabelas

Tabela 1: Composição nutricional do morango.....	5
Tabela 2: Teor de vitaminas presentes no morango	6
Tabela 3: Quadro resumo dos binómios de processamento aplicados a cada formulação do produto com pedaços de morango e ainda os dias de infusão a que foram submetidos, para cada estudo desenvolvido no decorrer do 1º ensaio.	25
Tabela 4:Valores médios e respetivos intervalos de confiança (I.C.) a 95% para pH e SST das formulações em estudo.	36
Tabela 5: Valores médios e respetivos intervalos de confiança (I.C.) a 95% para os parâmetros de cor dos controlos, binómios de processamento exceto 450,5' 1x0, e para o binómio 450,' 1x0.	37
Tabela 6: Valores médios e respetivos intervalos de confiança (I.C.) a 95% para pH, SST e atividade da água das amostras em estudo	50
Tabela 7: Valores médios e respetivos intervalos de confiança (I.C.) a 95% para os parâmetros de cor das amostras em estudo	50

Abreviaturas:

APH – alta pressão hidrostática

a_w – atividade da água

BPW – água peptonada tamponada (buffered peptone water)

DM – grau de metoxilação

IQF – congelamento rápido individual (individually quick freezing)

L.D. – limite de detecção

LDL – lipoproteína de baixa densidade (low density lipoprotein)

MRD – diluente de máxima recuperação (maximum recovery diluente)

Pa - Pascal

PCA – agar contagem de placas (plate count agar)

PME – pectinametilesterase

PG - poligalacturonase

PPO - polifenoloxidase

RCM – meio clostridial reforçado (reinforced clostridial médium)

SST – sólidos solúveis totais

UFC – unidade formadora de colónias

YGC – agar levedura glicose cloranfenicol (yeast extract glucose chloramphenicol agar)

ΔE – variação total da cor

1. Frulact

A Frulact produz preparados para iogurtes, gelados, purés para criança, pastelaria industrial, bem como compotas, sumos, néctares e refrigerantes, utilizando variadíssimos frutos, cereais, legumes, entre outros alimentos. Antes da fundação da Frulact, as empresas portuguesas de lacticínios produziam os seus próprios preparados de fruta para incorporarem ao iogurte. Atualmente a Frulact é uma das 5 maiores empresas europeias no setor Agro-alimentar de preparados de fruta.

Com vendas superiores a 100 milhões de euros, mais de 95% da receita provém do mercado internacional, de países como a Espanha, França, Bélgica, Luxemburgo, Itália, Suíça, Eslovénia, Marrocos, Tunísia, Argélia, Líbia, Egito, Irão, Arábia Saudita, Emirados Árabes Unidos, África do Sul, Zâmbia, Suazilândia e Moçambique. Com sete fábricas distribuídas por Portugal, França, Marrocos e África do Sul, possui uma capacidade de produção de 65 mil toneladas/ano.

Este trabalho foi desenvolvido no Frutech, o centro de Investigação, Desenvolvimento e Inovação da Frulact, situado na Maia, com o objetivo de aumentar o volume de faturação em produtos inovadores de 15% (2008) para 25% (2014). O reconhecimento da política de Inovação foi atribuído à Frulact aquando da certificação do seu Sistema de Gestão de Investigação, Desenvolvimento e Inovação (IDI) pela norma NP 4457:2007. Dentro dos produtos mais inovadores desenvolvidos pela Frulact destacam-se, o Frushape fruta em diferentes formas que ganhou em 2013 o Nutrition Awards na categoria de projeto de Investigação e Desenvolvimento, em processo de registo de patente em várias geografias, e as Bubbles de Chlorela finalista do Nutrition Awards de 2014 na mesma categoria.

2. Introdução

Os consumidores requerem cada vez mais produtos com as características visuais, sensoriais e nutricionais de produtos frescos, livres de aditivos. O processamento em APH permite obter produtos com um valor nutricional praticamente inalterado quando comparados com produtos frescos. A extensão do prazo de validade de produtos com fruta e vegetais é uma mais-valia, desde que não ocorram perdas de frescura, textura e sabor.

O mercado asiático tem um especial interesse por bebidas de vinagre, sendo que as bebidas comercializadas são bebidas de vinagre aromatizadas. A Frulact pretende aliar os benefícios do consumo de vinagre ao valor nutricional da fruta. Deste modo, a Frulact desenvolveu um produto à base de vinagre com sumo de cereja. Pretende-se com este trabalho verificar e comparar os resultados do processamento em alta pressão hidrostática com a pasteurização térmica, processamento utilizado pela Frulact neste produto.

Os preparados de fruta para aplicação em iogurte comercializados pela Frulact são pasteurizados termicamente, sendo que este processamento afeta a cor e outras propriedades intrínsecas da fruta. O desenvolvimento de um produto com morango com melhor qualidade para aplicação em iogurte, a fruta mais utilizada nestes produtos, é então oportuno. Nesse sentido pretendeu-se obter o melhor binómio de processamento em APH para este produto, verificando ainda se a adição de cloreto de cálcio e a variação dos dias de infusão do produto produziam alterações nos resultados.

Estes produtos deverão possuir características diferenciadoras em relação aos produtos obtidos por processamento convencional. Foi dada especial importância às características visuais e sensoriais e à carga microbiológica ao longo do prazo de validade dos produtos.

Todas as análises de microbiologia e de parâmetros físico-químicos foram realizadas na Frulact sendo que o processamento em alta pressão hidrostática de todos os produtos foi realizado na Universidade de Aveiro.

O presente trabalho está dividido 8 capítulos, onde será apresentado para além da Frulact (cap. 1), uma revisão da literatura (cap.3), bem como uma análise de mercado (cap.4), os objetivos deste trabalho (cap.5), os materiais e métodos utilizados (cap.6), resultados obtidos e discussão sobre estes (cap.7) bem como as conclusões do trabalho (cap.8.).

3. Revisão da Literatura

3.1. O Morango

O morango (*Fragaria sp.*) é oriundo do Chile e dos Estados Unidos da América. Atualmente os maiores produtores de morango são os EUA, responsáveis por 28 % da produção mundial, sendo que países europeus como Espanha, Polónia, Rússia, Itália e Alemanha representam, em conjunto, 40 % da produção, seguindo-se o Japão, Coreia do Sul e Turquia (18 %). Portugal produz anualmente cerca de 12000 toneladas de morango, sendo que o principal destino é a venda em grandes e pequenas superfícies comerciais (OMAIAA, 2011).

Além da grande comercialização sob a forma de morango fresco e congelado, este fruto é também largamente utilizado na produção de compotas, sumos, néctares e purés (Basu, Nguyen, et al., 2014). O morango é o fruto mais utilizado na produção de preparados para aplicação em iogurte pela Frulact. O desenvolvimento de novos produtos e de novos métodos de processamento para a produção dos preparados tem então um particular interesse aquando da utilização do morango.

O morango para consumo fresco é geralmente conservado entre 0 e 6 °C, sendo que o morango utilizado em produtos industriais é maioritariamente congelado a -18 °C. A congelação do morango visa uma extensão da vida útil do fruto, com uma manutenção ou até redução da carga microbiológica deste (Beales, 2004). A congelação permite ainda uma preservação da cor e sabor.

As características mais importantes para os consumidores de morango são a doçura (teor de sólidos solúveis) e o aroma (Azodanlou, Darbellay, et al., 2003). Para além das características visuais do morango, o seu valor nutricional é importante para consumidores atentos à sua alimentação, sendo que o consumo de morango poderá promover benefícios para a saúde.

Os morangos são constituídos principalmente por água, hidratos de carbono e fibra (Tabela 1). Possuem quantidades significativas de vitamina A, vitaminas do complexo B (B1, B2, B3, B6, B9), vitamina C, vitamina E, ácido fólico e de carotenóides (Tabela 2).

*Tabela 1: Composição nutricional do morango**

Componente	em 100 g (g)
Água	90,1
Proteína	0,6
Gordura total	0,4
Hidratos de Carbono	5,3
Ácidos orgânicos	0,77
Fibra alimentar	2

* Adaptado do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Departamento de Alimentação e Nutrição (INSA, 2010a)

Tabela 2: Teor de vitaminas presentes no morango*

Componente	por 100 g
Vitamina A (equivalentes de retinol), ug	4
Caroteno, mg	26
α -tocoferol, mg	0,2
Tiamina, mg	0,03
Riboflavina, mg	0,06
Niacina, mg	0,6
Triptofano.60 ⁻¹ **, mg	0,2
Vitamina B6, mg	0,05
Vitamina C, mg	47
Folatos, ug	47

*Adaptado do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Departamento de Alimentação e Nutrição (INSA, 2010a)

** Considerando que o aminoácido triptofano é convertido em ácido nicotínico no organismo e que 60mg deste são nutricionalmente equivalentes a 1mg de niacina.

O morango é considerado um alimento funcional graças aos efeitos que pode ter na saúde, onde se destacam a sua capacidade antioxidante e os efeitos protetivos contra a hipertensão e a inflamação. Existem estudos embora escassos dos efeitos benéficos do morango em cancro e problemas cardiovasculares. A capacidade antioxidante do morango é atribuída principalmente à concentração de ácido ascórbico, ácido elágico e antocianinas. O efeito mais importante dos flavonóides é a sua capacidade antioxidante, embora possuam também características anti-inflamatórias, vasodilatadoras, anticancerígenas e antivirais. O morango é constituído também por fitoesteróis, esteróis presentes em plantas e frutos, que aparentam promover a diminuição do colesterol LDL (Low Density Lipoprotein – lipoproteína de baixa densidade) (Basu, Nguyen, et al., 2014; Hannum, 2004).

A concentração de componentes naturalmente presentes no morango varia entre variedades, cultivo, clima de produção, temperatura de armazenamento e métodos de processamento (Szajdek & Borowska, 2008).

3.2. O Vinagre

O vinagre é produzido por fermentação alcoólica e acética do vinho. Este pode ser proveniente de álcool, vinho, vários frutos e cereais sendo que as suas aplicações na alimentação são variadas. É constituído principalmente por água e ácidos orgânicos e não possui teor vitamínico

(INSA, 2010b). As primeiras utilizações do vinagre não eram exclusivas para alimentação tendo sido utilizado como remédio medicinal e para prevenção de infeções. O desenvolvimento de uma bebida de vinagre possui especial interesse visto que o vinagre apresenta propriedades funcionais tais como ação antimicrobiana, anticancerígena e antioxidante (graças à contribuição de compostos fenólicos), diminuição do riscos de doenças cardiovasculares (pela redução de colesterol LDL), poder saciante podendo ser considerado um aliado contra a obesidade, e ainda como tratamento para a diabetes (Budak, Aykin, et al., 2014).

3.3. A Pasteurização Térmica

A pasteurização térmica para a elaboração de produtos à base de frutos é o processamento mais utilizado pela indústria. O processamento térmico geralmente ocorre a uma temperatura igual ou superior a 90 °C, permitindo a redução da carga microbiológica (Awuah, Ramaswamy, et al., 2007). Esta redução é necessária para garantir a segurança alimentar dos produtos, bem como para o aumento da vida útil destes.

Alterações de cor e textura estão associadas ao processamento térmico (Awuah, Ramaswamy, et al., 2007; Sila, Duvetter, et al., 2008). O teor de vitaminas e antocianinas naturalmente presentes nos frutos é também alterado após pasteurização térmica (Awuah, Ramaswamy, et al., 2007; Ioannou, Hafsa, et al., 2012; Reddy & Love, 1999), sendo então oportuno o desenvolvimento de produtos de morango com recurso a outros tipos de processamento que não impliquem a diminuição de compostos bioativos, ou que possuam um impacto reduzido nestes.

3.4. O Processamento em Alta Pressão

O processamento em alta pressão hidrostática, APH, permite obter produtos com elevada qualidade sensorial e nutricional similares a produtos frescos, garantindo a segurança a nível microbiológico. A redução da carga microbiológica sem recorrer a um tratamento térmico, é uma das principais vantagens desta tecnologia no setor alimentar (Fellows, 2000). A tecnologia permite uma extensão do prazo de validade mantendo a frescura, sabor, textura e vitaminas dos produtos submetidos ao processamento (Tewari & Juneja, 2007). A redução do tempo de processamento, a uniformidade do tratamento, a possibilidade do processamento se realizar em produtos previamente embalados, a redução e até eliminação de químicos e conservantes no produto são também vantagens desta tecnologia em comparação com a pasteurização térmica (Fellows, 2000).

Uma das particularidades do processamento em APH é o princípio isostático, dado que a pressão é aplicada uniformemente e de modo instantâneo no produto (Hogan, Kelly, et al., 2005).

A APH foi inicialmente aplicada na produção de cerâmica, e na indústria metalúrgica, sendo que o primeiro processamento em alimentos foi realizado por Hite e Bridgman em 1889 na Universidade de Virgínia, EUA (Yaldagard, Mortazavi, et al., 2008). Hite iniciou o estudo do processamento em APH de alimentos com o leite, e observou que a validade comercial deste poderia ser aumentada em 4 dias após o seu processamento a 600 MPa por 1 hora à temperatura ambiente (Farkas & Hoover, 2000).

O primeiro produto processado em APH a entrar no mercado foram compotas de morango produzidas pela empresa Meidiya food factory Co. no Japão, tendo a compota sido pressurizada a 294 MPa por 20 minutos (Yaldagard, Mortazavi, et al., 2008).

3.4.1. Processamento

Os processos de APH mais utilizados a nível industrial são geralmente em descontínuo (*batch*), onde o produto poderá ou não ser embalado, ou num processo semi-contínuo (alimentos possíveis de serem bombeados). Dentro das vantagens do embalamento é importante destacar o risco mínimo de contaminação e a aplicação da tecnologia a produtos sólidos e líquidos. Para processamento de alimentos não embalados é necessário que o meio transmissor seja asséptico de maneira a reduzir a contaminação do produto, tal como todos os componentes do sistema de pressão (limpeza e esterilização *in situ*).

O equipamento de alta pressão consiste essencialmente num reservatório contendo no seu interior um meio transmissor de pressão. Após o produto ser introduzido dentro do reservatório, este é devidamente fechado. Através de um sistema gerador de pressão, o reservatório é completamente preenchido com meio transmissor de pressão, e o ar é removido do compartimento. O sistema gerador de pressão bombeia o meio para o reservatório até que a pressão desejada seja atingida (pressurização). Quando o sistema atinge a pressão desejada, este permanece à mesma pressão pelo tempo requerido (*holding time*) sem que seja necessária energia adicional, sendo que após este, o sistema entra em despressurização. O tempo para que a pressurização, o *holding time* e a despressurização ocorram é designado por tempo de ciclo (Dalai & Sahu, 2010).

Existem diferentes sistemas geradores de pressão, designados por compressão direta e compressão indireta. A compressão direta consiste num pistão que comprime o compartimento. Esta compressão do pistão necessita que o sistema de fecho entre o pistão e a superfície interna do reservatório seja dinâmico. Por esta razão, este tipo de compressão não é utilizado em equipamentos industriais mas somente em equipamentos laboratoriais e de pequeno volume. A compressão indireta consiste num intensificador de pressão que pressuriza o meio até que este atinja a pressão requerida (Dalai & Sahu, 2010). A compressão adiabática da água aumenta a temperatura em média 3 °C por

100MPa. Este aumento de temperatura dependerá da matriz do produto (Balasubramanian & Balasubramaniam, 2003).

3.5. Efeitos da Alta Pressão

3.5.1. Microrganismos

A nível microbiológico a APH consegue inativar os microrganismos patogénicos e deteriorativos, mas a sua ação depende do meio em que os microrganismos se encontram, do estado de crescimento destes e ainda da pressão e tempo de *holding* do processamento (Fellows, 2000; Rastogi, Raghavarao, et al., 2007). A resistência dos microrganismos à pressão é geralmente maior quanto mais rico em nutrientes (por ex. sacarose, glucose, frutose e/ou cloreto de sódio) o meio onde se inserem for (Hashizume, Kimura, et al., 1995; Oxen & Knorr, 1993; Stewart, Dunne, et al., 2000). A APH promove alterações na morfologia da célula (incluindo na permeabilidade da membrana celular) e nas reações químicas, desnaturação de proteínas, inibição enzimática, inibição de mecanismos genéticos e ainda a destruição de ribossomas (Hogan, Kelly, et al., 2005). Apesar disto, os microrganismos poderão reagir de diferente modo tendo em conta a sua fase de crescimento. Células em crescimento exponencial são mais sensíveis do que células em fase estacionária (Palou, Lopez-Malo, et al., 1998; Smelt, 1998), sendo que a capacidade de recuperação dos danos pelas células parece estar relacionada com a sua resistência à pressão. A refrigeração no decorrer do armazenamento pode aumentar o tempo necessário para que a célula recupere a impermeabilidade da membrana (FDA, 2014). É então importante garantir a segurança microbiológica dos produtos após o processamento e também durante o armazenamento.

Bolores e leveduras são facilmente inativados pela APH. Quando as leveduras são submetidas a pressões entre 172 e 345 MPa estas sofrem alterações na membrana celular, desintegração ou quebra da parede celular, e ainda plasmólise, sendo necessários poucos minutos para a sua morte (Guerrero-Beltran, Barbosa-Canovas, et al., 2004). Já os bolores poderão ser inativados a pressões entre 300-600 MPa (Smelt, 1998).

A inativação de bactérias vegetativas pode ser realizada com processamento em APH. Microrganismos como a *Escherichia Coli O157:H7* e *Listeria monocytogenes*, microrganismos patogéneos, bem como *Salmonella typhimurium* e *Staphylococcus aureus* são inativados em APH à temperatura ambiente (Dogan & Erkmen, 2004; Erkmen, 2009; Hiremath & Ramaswamy, 2012; Ramaswamy, Zaman, et al., 2008; Tassou, Galiatsatou, et al., 2007). Apesar da resistência à pressão de bactérias como a *E. Coli O157:H7*, Hiremath & Ramaswamy (2012) reportaram a sua inativação completa a 500 e 550 MPa com 1 minuto de processamento. Bactérias gram-negativas são geralmente mais sensíveis à pressão do que as bactérias gram-positivas (Aurelio, Barry, et al., 2007).

A alta resistência dos esporos bacterianos à pressão é conhecida, visto que a eliminação destes é um processo difícil para o processamento em APH (Knorr, Froehling, et al., 2011; Tewari & Juneja, 2007). Hogan, Kelly, et al. (2005) referiram que a inativação dos esporos ocorre a $P > 800$ MPa a temperatura ambiente, sendo que é mais eficaz em temperaturas entre os 50-70 °C do que temperaturas inferiores a 0 °C. Um tratamento alternativo é provocar a germinação dos esporos e de seguida efetuar o processamento em APH. A germinação poderá ser provocada com pressões entre os 50-300 MPa, sendo que as bactérias vegetativas poderão ser inativadas posteriormente com pressões mais elevadas (Smelt, 1998). Van Opstal, Bagamboula, et al. (2004) verificaram que ocorre germinação a 100 MPa e que, com o aumento da pressão, a germinação de esporos de *Bacillus cereus* também aumenta. Estes autores apresentaram ainda dois processamentos diferentes para a inativação de esporos, onde uma redução de 6 log em *Bacillus cereus* é obtida: processamento a 500 MPa a 60 °C, ou a 200 MPa a 45 °C seguindo-se de tratamento térmico a 60 °C. Margosch, Ehrmann, et al. (2006) referiram que a inativação de esporos de *Clostridium botulium* foi conseguida quando processados a baixa pressão, 0,1 MPa ou a alta pressão de 600-1400 MPa e temperaturas de processamento entre 70-120 °C. Descreveram que com o aumento de temperatura ocorreu um aumento da inativação dos esporos, e que para temperaturas de 110 °C e 120 °C existiu um efeito protetor da pressão. A 0,1 MPa, verificaram-se os melhores resultados nesta gama de temperaturas, sendo que o limite de deteção foi atingido após aproximadamente 6 e 2 minutos de *holding*, respetivamente.

3.5.2. Proteínas

As proteínas consistem essencialmente em estruturas ordenadas de aminoácidos. Existem 4 tipos de estruturas que as proteínas podem apresentar: a primária, secundária, terciária e a quaternária. Destas estruturas, a secundária, terciária e quaternária são afetadas pelo processamento em APH. A estrutura primária não sofre qualquer alteração visto que as ligações covalentes não são afetadas, mas sim as ligações não-covalentes, presentes nas outras três estruturas (Hendrickx, Ludikhuyze, et al., 1998). A pressão afeta os sistemas de duas formas distintas: reduzindo o espaço molecular disponível (volume este que depende do volume individual dos átomos, das cavidades internas e uma contribuição da solvatação das ligações pépticas e cadeias laterais dos aminoácidos), e aumentando as reações entre cadeias (Mozhaev, Heremans, et al., 1996). A APH pode provocar a desnaturação proteica, sendo que esta depende da estrutura da proteína, da pressão e temperatura do processamento, bem como da composição e pH do meio. Esta desnaturação leva ao desenovelamento e perda de estrutura das proteínas. Com pressões entre 100-200 MPa pode ocorrer ainda agregação proteica (influenciada pelo pH e força iónica), gelatinização (se em concentrações e pressões elevadas), emulsão e ainda a formação de espuma (Aurelio, Barry, et al., 2007). Geralmente, com

pressões acima de 300 MPa a desnaturação proteica é irreversível à temperatura ambiente (Hendrickx, Ludikhuyze, et al., 1998). Estes efeitos poderão ser interessantes para a obtenção de novas estruturas e conformações da proteína, o que poderá originar novas e interessantes texturas e aparências dos alimentos (Aurelio, Barry, et al., 2007).

3.5.3. Antocianinas e Enzimas

Ao contrário da pasteurização térmica, a APH não afeta, geralmente, o sabor, a textura e a cor dos produtos. As antocianinas que são facilmente hidrolisadas com temperaturas elevadas em meio ácido, não sofrem alteração durante o processamento em APH a temperatura moderada (Oey, Lille, et al., 2008; Patras, Brunton, et al., 2009). Patras, Brunton, et al. (2009) afirmaram que o processamento em APH de puré de morango a pressões entre 400-600 Mpa à temperatura ambiente, não possui impacto nas antocianinas. Apesar de não existir diminuição no processamento, talvez devido à incompleta inativação enzimática ou até pela presença de ácido ascórbico, no decorrer do armazenamento, a concentração de antocianinas tende a diminuir (Oey, Lille, et al., 2008). A principal antocianina presente no morango é a pelargonidina-3-glucosídeo sendo que na cereja as que apresentam maior expressão é a cianidina-3-rutinósídeo e a cianidina-3-glucósídeo (Gonçalves, 2006; Patras, Brunton, et al., 2009). Garcia-Palazon referiu que antocianinas como a pelargonidina-3-glucosídeo e a pelarginidina-3-rutinosídeo são estáveis após o processamento em APH a 800 MPa (18-22 °C por 15 min) devido à completa inativação da PPO em morango e framboesa (Oey, Lille, et al., 2008). Kouniaki, Kajda, et al. (2004) referiram que a refrigeração de groselha a 5 °C é importante para diminuir a degradação de antocianinas após processamento em APH. O armazenamento de groselha a 20 °C e 30 °C leva a que ocorra uma maior degradação de antocianinas.

Para além da prevenção da degradação de antocianinas, a refrigeração dos produtos de fruta e vegetais processados em APH permite a manutenção da frescura dos produtos ao longo do seu prazo de validade, ao contrário dos produtos não submetidos a alta pressão, que só apresentam esta característica nos primeiros dias (Tewari & Juneja, 2007). O processamento do produto a vácuo é também importante, devido às reações de oxidação que poderão ocorrer (Terefe, Matthies, et al., 2009).

As enzimas podem alterar a qualidade dos alimentos pelo que a inativação é importante para a extensão da sua vida útil (Liavoga & Matella, 2012). A APH pode ativar, inibir e até aumentar a atividade enzimática (Guerrero-Beltran, Barbosa-Canovas, et al., 2004; Terefe, Buckow, et al., 2014). As enzimas são afetadas de várias formas, sendo que os efeitos da APH poderão manifestar-se de diferentes modos em função da pressão e tipo de enzima (Bermúdez-Aguirre & Barbosa-Cánovas, 2011). A inativação enzimática depende do pH do meio, da concentração de substrato, da temperatura de processamento e da estrutura da enzima (Hogan, Kelly, et al., 2005). A alteração das

estruturas intermoleculares, da conformação dos sítios ativos e da interação entre enzima-substrato são fatores que podem levar à inativação de enzimas submetidas a APH (Hendrickx, Ludikhuyze, et al., 1998; Rastogi, Raghavarao, et al., 2007). Apesar dos efeitos que a pressão possa ter nas enzimas, estes por vezes, podem ser reversíveis, sendo que aquando do processamento a pressão superior a 300 MPa, a reativação não se verifica, sendo que os efeitos da APH são irreversíveis (Chakraborty, Kaushik, et al., 2014).

A polifenoloxidase, PPO é uma enzima que provoca escurecimento e degradação de frutas e vegetais, sendo que alterações de sabor não desejáveis são também atribuídas à ação esta enzima (Yaldagard, Mortazavi, et al., 2008). A adição de açúcar, ácido cítrico e cloreto de cálcio tendem a aumentar a inativação da PPO, enquanto a adição de ácido ascórbico protege a PPO de inativação em APH (Chakraborty, Kaushik, et al., 2014; Hendrickx, Ludikhuyze, et al., 1998). Eshtiaghi & Knorr (1993) referiram que a adição de ácido cítrico promove a inativação da PPO, porque a diminuição do pH favorece a inativação enzimática.

No caso da pectinametilesterase (PME), enzima que potencia a perda de firmeza dos frutos, apesar da sua inativação a 200 MPa a temperatura ambiente, esta sofre ativação se for submetida a pressões entre 300-500 MPa, pelo que ocorre um efeito sinérgico antagónico em função da pressão e temperatura submetidas (Bermúdez-Aguirre & Barbosa-Cánovas, 2011; Hsu, 2008).

Cano, Hernandez, et al. (1997) referiram que existe uma redução de 60% da PPO e de 25% da peroxidase quando um puré de morango é submetido durante 15 minutos a 250MPa à temperatura ambiente e a 200MPa a 30 °C, respetivamente. Já nos sumos referiram que para a inibição da PME é necessário um processamento a 600-1000 MPa a 57 °C e 20 °C respetivamente, por 10 minutos, sendo que o produto necessita de refrigeração, adição de inibidores e branqueamento moderado para diminuir a deterioração.

3.5.4. Vitaminas

As vitaminas são essenciais para o metabolismo do organismo, sendo necessárias em pequenas quantidades. Geralmente, o processamento em APH não altera o teor de vitaminas dos alimentos, tais como a vitamina A, E, B1, B2, B6, a niacina e carotenóides. Na realidade o processamento com recurso a alta pressão leva a uma maior extração de vitamina A, E e carotenóides dos alimentos (Oey, Van der Plancken, et al., 2008).

Segundo Bodelón, Avizcuri, et al. (2013) o processamento de puré de morango em APH à temperatura ambiente não modifica o teor de ácido ascórbico (vitamina C). Sancho, Lambert, et al. (1999) verificaram que o processamento à temperatura ambiente de calda de morango em APH não possui impacto no teor de ácido ascórbico, tiamina e de piridoxal. Já Patras, Brunton, et al. (2009) afirmaram que o processamento em alta pressão à temperatura ambiente levou a uma redução mínima

do teor de ácido ascórbico em puré de morango, sendo que a pasteurização térmica levou a uma maior redução do que o processamento em APH.

3.6. Fatores que influenciam o Processamento em Alta Pressão

A produção de alimentos com baixo pH, é comum na indústria alimentar. Quando os microrganismos são submetidos a um pH inferior ao seu pH ótimo de crescimento, o crescimento microbiano pode ser inibido, podendo estar metabolicamente ativos. Como o pH externo e interno da célula não estão estabilizados, a célula não consegue dividir-se e desenvolver-se, sendo assim possível controlar a carga microbiológica (Beales, 2004).

A inativação de microrganismos por APH é favorecida por pH ácido, sendo que quanto menor o pH mais microrganismos sofrem inativação (FDA, 2014). Outro fator que influencia a inativação microbiana é a temperatura de processamento. Vários autores referem que temperatura moderada ou elevada, em conjunto com um baixo pH, levam a uma maior redução da carga microbiana (Alpas, Kalchayanand, et al., 2000; Pandya, Jewett, et al., 1995; Roberts & Hoover, 1996; Stewart, Dunne, et al., 2000). Pelo contrário, Hashizume, Kimura, et al. (1995) afirmaram que a inativação de uma levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) é mais eficaz em temperaturas negativas, do que para temperaturas moderadas à mesma pressão de processamento. Afirma ainda que, temperaturas mais baixas levam a que a pressão necessária para a sua inativação seja menor, e que um meio mais rico levará a que a inativação seja mais difícil de ocorrer. Isto poderá dever-se a um aumento de nutrientes no interior das células (Aurelio, Barry, et al., 2007). Na verdade, vários autores afirmaram que quanto maior a atividade da água for, maior será a inativação da carga microbiológica em APH, visto que parece existir uma proteção dos microrganismos quando submetidos a processamento com baixa atividade da água (Hashizume, Kimura, et al., 1995; Oxen & Knorr, 1993; Palou, Lopez-Malo, et al., 1998; Palou, Lopez-Malo, et al., 1997). Stewart, Dunne, et al. (2000) relataram um efeito sinérgico antagônico na redução da carga microbiana de esporos na presença de laurato de sacarose, com o aumento de pressão e temperatura de processamento. É importante portanto, ter em conta todos estes fatores aquando do processamento em APH com via à diminuição da carga microbiológica, para além da pressão e *holding* do processamento.

3.7. Efeito do Cálcio

O cálcio em frutos e vegetais permite um aumento da vida útil destes visto que fortalece a parede celular assegurando assim a integridade da estrutura da célula. A estrutura da célula pode ser reforçada por ligações entre iões de cálcio e pectina (Poovaiah, 1986).

A pectina é um dos componentes da célula vegetal responsável pela alteração de textura, para além da celulose e hemiceluloses, sendo que é também o componente em maior abundância na célula

vegetal (John & Dey, 1986). A pectina é designada como um polímero linear com ligações α -(1->4) de ácido galacturónico e ramnogalacturonanas (Van Buren, 1991). Poderá apresentar esterificação com grupos metil, entre outros, sendo que o grau de metoxilação (DM) representa proporção de grupos metil esterificados.

Durante o processo de maturação ocorre degradação enzimática da parede celular. Esta degradação é promovida principalmente pela pectinametilesterase (PME) e pela poligalacturonase (PG). A PG promove a hidrólise das ligações α -1,4 de ácido galacturónico, enquanto a PME promove a hidrólise dos ésteres metoxil, resultando numa pectina com grupos carboxilos livres (Sila, Duvetter, et al., 2008). O grau de esterificação tende a diminuir pela ação da PME durante o amadurecimento dos frutos, levando a que a pectina seja mais suscetível à ação das endo-poligalacturonases (John & Dey, 1986).

Após a hidrólise dos ésteres metoxil da pectina, e em presença de iões de cálcio, estes podem realizar ligações cruzadas entre os grupos carboxilos livres, promovendo uma maior firmeza da parede celular (Brett & Waldron, 1996). Assim sendo, a PME tem uma grande importância na concentração de cálcio na parede celular e lamela média, visto que a esterificação impede que o cálcio interaja com a pectina. Para além do aumento de firmeza, as ligações entre cálcio e pectina, formando o pectato de cálcio, inibem a ação da PG e PME, retardando o processo de degradação da textura (Yamamoto, Ferreira, et al., 2011).

O aumento da concentração de substâncias pépticas solúveis ocorre naturalmente durante o amadurecimento, sendo que pode ser bom indicador de firmeza ao longo do tempo de maturação (Gross & Wallner, 1979; Silva, Abreu, et al., 2009). Vários autores referem que a PG não é a única causa para a perda de firmeza dos frutos (Brummell & Harpster, 2001; Giovannoni, DellaPenna, et al., 1989; Nunan, Sims, et al., 1998) e que existem outras enzimas que poderão estar envolvidas (Chin, Ali, et al., 1999; Payasi & Sanwal, 2003), sendo que alguns estudos indicam ainda que a solubilização de substâncias pépticas não é o único fator do amolecimento destes durante o amadurecimento (Lucena, Assis, et al., 2011; Malis-Arad, Didi, et al., 1983).

De acordo com Carvalho & Lima (2002) a imersão de kiwis em cloreto de cálcio (1%) leva a um menor teor de pectina solúvel, o que poderá traduzir uma absorção de cálcio pelos tecidos. Para além disso, o cálcio promoveu um aumento da vida útil do fruto. Também Botelho, Souza, et al. (2002) referiram que as goiabas tratadas com cloreto de cálcio (0,5%) apresentam uma maior vida útil em relação ao controlo. Pelo contrário, Silva (2004) relatou que a imersão de morangos em soluções de diferentes concentrações de cloreto de cálcio (1, 2, 3 e 4%) não prolonga a vida útil destes, apresentando uma degradação maior da aparência do que os morangos não submetidos a imersão. Na realidade, parece existir um limite para a concentração de cloreto de cálcio, para que não se verifiquem efeitos indesejados. Quando os iões de cálcio não conseguem formar ligações,

porque a parede celular já se encontra saturada, os íons livres de cálcio podem levar a que ocorram lesões nos frutos. Por esta razão, é necessário ajustar a concentração de cloreto de cálcio para que não se promovam lesões nos frutos, mas sim um aumento de firmeza destes bem como da sua vida de prateleira.

Vários autores sugerem que os efeitos da adição do cálcio, em adição ao processamento em alta pressão, em termos de firmeza são aumentados. Segundo Sila, Duvetter, et al. (2008), a degradação de textura é reduzida aquando da infusão com cálcio, sendo que esta é ainda mais expressiva após o processamento em APH. A infusão após o processamento beneficia da alteração da estrutura da célula e pela ausência de ar provocadas pelos efeitos da pressão na célula, e do aumento da transferência de massa, não limitando a captação de cálcio ao contrário do que ocorre antes do processamento. Sirijariyawat, Charoenrein, et al. (2012) procederam à infusão de PME e cloreto de cálcio e constatarem um aumento de firmeza da manga fresca e descongelada, sendo que apesar dos danos provocados pelo congelamento e descongelamento na estrutura da célula, estes podem ser minimizados pela infusão a 50 kPa, obtendo-se resultados similares às amostras frescas. Miguel-Pintado, Nogales, et al. (2013) verificaram que especialmente a baixa pressão (200-300 MPa) as nectarinas tratadas com lactato de cálcio antes do processamento possuíam melhor firmeza do que os controlos. Fraeye, Knockaert, et al. (2010) referiram que parte do cálcio foi absorvida pelos morangos após infusão, e que o teor deste não sofreu alteração após processamento em APH. A infusão de cloreto de cálcio preveniu os danos causados pelo processamento, mas apesar da melhoria em termos de firmeza que a infusão de cálcio possa representar, esta depende do tipo de processamento. O processamento térmico e o processamento em APH com temperaturas altas provocaram danos mais severos do que o processamento em APH a temperaturas baixas/moderadas. Os mesmos autores verificaram ainda que o processamento em APH a 550 MPa com infusão de PME e cloreto de cálcio diminuiu o DM, o que indica que a PME atuou sobre a pectina promovendo as ligações entre cálcio e pectina. Apesar deste facto, para o processamento em APH com temperatura elevada (70 °C), o DM foi ainda mais baixo, mas não se traduziu num aumento de firmeza mas sim numa diminuição, o que sugere que o DM não é o único parâmetro para a determinação da firmeza. Hauben, Bernaerts, et al. (1998) e Sale, Gould, et al. (1970) afirmaram que a adição de cloreto de cálcio protegeu a carga esporulada no processamento em APH, a ~100 MPa e 300 MPa, respetivamente. Hauben, Bernaerts, et al. (1998) referiram ainda que a baroproteção é tanto maior quanto a concentração de Ca^{2+} , e que esta ocorreu durante 5-10 min de *holding* do processamento. Após 10 min de *holding* a inativação decorreu independentemente da concentração de Ca^{2+} .

3.8. Regulamentação

A regulamentação de produtos processados em APH na União Europeia segue a legislação (CE 258/97) para ‘Novos alimentos e ingredientes alimentares’. É possível que um produto seja regulamentado pelas normas nacionais, desde que seja provado de que o novo produto é significativamente parecido a um produto já existente no mercado (Rastogi, Raghavarao, et al., 2007).

O termo “fresco” e “cru” tem sido utilizado por várias marcas de produtos em APH, o que tem gerado alguma controvérsia por parte da indústria de sumos dos EUA. Regulamentos norte americanos referem que um produto “fresco” não pode ser processado, pelo que os produtos processados em APH não poderão ter essa designação. O termo “cru” tem também sofrido debate, sendo que são esperados novos desenvolvimentos nesta área (Watson, 2014).

4. Análise de Mercado

O mercado de produtos em APH está em expansão. A necessidade de produtos seguros com o sabor e a frescura de alimentos frescos é uma exigência cada vez maior por parte dos consumidores. Segundo Cardello, Schutz, et al. (2007), fatores como o tipo de produto, os seus benefícios e o método de processamento são mais importantes do que o seu custo. Os autores referiram que o consumidor dá mais importância ao risco que determinado produto poderá possuir, que estes atribuíram uma maior utilidade ao processamento por APH do que outros métodos de processamento, tais como a pasteurização térmica, campos elétricos pulsados, modificação genética, preservação a frio, irradiação e energia ionizante, e que consumidores não-informados sobre a tecnologia (APH) poderão não ter uma aceitação positiva por medo do desconhecido.

Já Torres & Velazquez (2005) referiram que o mercado cada vez mais necessita de alimentos com maior nível nutricional, de suplementos e até nutracêuticos. Cada vez mais existe a tendência de que a dieta dos dias atuais não é suficiente para suprimir as necessidades nutricionais. Estes nutrientes poderão ser fornecidos pelos produtos processados por aPH, visto que este processamento não afeta compostos biologicamente ativos, assegurando a segurança alimentar destes. Produtos livres de aditivos são cada vez mais procurados pelos consumidores, bem como produtos não-processados.

Atualmente, o mercado de produtos em APH é amplo sendo que dentro desses produtos pode-se destacar os produtos de carne e peixe, os produtos lácteos, frutas e vegetais, sumos, refeições prontas, entre outros. O mercado de produtos em APH é liderado pela América do Norte. A Europa apesar de não possuir um mercado tão expressivo como a América do Norte, tem também uma importante quota de mercado. Estima-se que até 2018 o mercado de produtos em APH cresça progressivamente em relação a 2012 (MarketsandMarkets, 2013a, b).

4.1 Produtos Processados em Alta Pressão

4.1.1. Mercado nacional

No mercado nacional, os produtos processados em APH são reduzidos, onde podem se destacar os sumos e smoothies da Sonatural e ainda da marca branca Pura Vida do Pingo Doce em relação a produtos à base de fruta e vegetais. Os produtos da Sonatural apresentam-se em embalagens de 250 mL a 1,69 € (Figura 1A) e ainda de 250 mL e 750 mL a 1,54 e 3,87 €, respetivamente, apresentados na Figura 1B. Os sumos “Copa” custam 2,69 € por 750 mL, apresentados na Figura 1C. Já os produtos “Pura Vida” são comercializados a 0,74 e 1,59 €, respetivamente para embalagens de 250 mL e 750 mL (Figura 1D).



Figura 1: Exemplos de produtos processados em APH no mercado nacional

4.1.2 Mercado internacional

Quanto ao mercado internacional, produtos de fruta e vegetais nomeadamente em sumos e smoothies estão a ser largamente comercializados especialmente nos EUA. Marcas como a Evolution Fresh da Starbucks (Figura 2A), Naked (Figura 2B) e Suja (Figura 2C), lideram este mercado, enquanto que no mercado Britânico é possível destacar a marca Coldpress (Figura 2D). Apresentam combinações de várias frutas e/ou vegetais, isentos de aditivos, com preços que variam de \$4,99 - \$6,99 USD por 450 mL no mercado americano, enquanto no mercado britânico os preços encontram-se nos £3,00 por 750 mL (Frank, 2013a, b, 2014; Lieber, 2014).



Figura 2: Exemplos de smoothies processados em APH no mercado internacional

4.1.3 Iogurtes

Alguns iogurtes processados em APH foram já lançados no mercado, sendo eles o iogurte Envy Manga em embalagem de 200g por 1,80 €, o iogurte I'm Real Mango yogurt da Pulmuone com 500 mL a 3,79 €, Figura 3 (Hiperbaric) (Mintel GNPD, 2014).

Não existe informação sobre qual componente do iogurte (iogurte com fruta, só fruta ou só iogurte) é processada em APH nem sobre a permanência destes produtos no mercado.



Figura 3: Exemplos de iogurtes processados em APH

4.1.4 Produtos inovadores

A inovação de produtos em APH está presente no mercado. Os produtos inovam pela forma de apresentação, pelo seu conceito e ainda pelo método de extração dos seus compostos.

A marca Tio Gazpacho, Figura 4A, apresenta gaspacho processado em APH numa embalagem não habitual para este género de alimento. A embalagem é semelhante a outras de sumos e smoothies, sendo que é mais prática e atrativa do que as embalagens comuns de sopa. Está disponível no mercado norte americano por 8,99\$ em 354 mL (Watson, 2015).

Já o Chewable Juice, Figura 4B, não segue o conceito típico de sumo, sendo um sumo mastigável. Este sumo contém várias sementes, nozes e bagas mastigáveis, referindo que a mastigação é importante no processo digestivo, onde o consumidor fica saciado mais rapidamente. Está à venda por 7\$ USD em embalagens de 354 mL (OzScientific, 2014).

O smoothie de cacao Suavva, Figura 4C, inova pela incorporação de puré de cacao naturalmente presente neste fruto, que não é utilizado nos demais produtos à base de cacao. A tecnologia de APH preserva o nível de antioxidantes, vitaminas e sabor deste puré. Este cacao smoothie apresenta-se também em combinação com outros frutos. As variações do smoothie de cacao estão à venda em embalagens de 310 mL (Hennessy, 2014).



Figura 4: Produtos inovadores processados em APH

4.2 Produtos à base de Vinagre

Bebidas à base de vinagre são especialmente consumidas no mercado asiático. Este mercado valoriza as propriedades funcionais do produto. Entre os vários produtos com vinagre destacam-se o Fruit Vinegar Shih Chuan (Taiwan) a 0,56 € por 140 mL (Figura 5A) e ainda o Genki-Su a \$16,99 USD por 335 mL (Figura 5B) (Mintel GNPD,2014).

Não se conhecem ainda bebidas à base de vinagre processadas em APH.



Figura 5: Bebidas à base de vinagre

5. Objetivos

No decorrer deste trabalho pretendeu-se comparar a pasteurização térmica com o processamento em APH da bebida de vinagre de cereja bem como verificar a que temperatura a degradação de cor era minimizada. Pretendeu-se ainda verificar se o processamento em APH promovia uma extensão do prazo de validade do produto e se perdas a nível sensorial eram minimizadas.

Tendo em vista a comercialização do produto com pedaços de morango pretendeu-se determinar o melhor binómio de processamento em APH (pressão/tempo), bem como estudar os efeitos da congelação na carga microbiana, da adição de cálcio na promoção da firmeza dos pedaços de morango e no impacto na carga microbiológica do produto. Pretendeu-se também determinar se a variação dos dias de infusão antes do processamento em APH influenciavam as características do produto final.

De modo a obter-se uma produção mais rápida do produto, e a uma diminuição das etapas de produção a que o produto necessita de ser sujeito, pretendeu-se ainda verificar se a infusão por alta pressão traduzia resultados semelhantes ao método desenvolvido pela Frulact.

6. Materiais e Métodos

Os ensaios referentes à tecnologia APH utilizaram duas tipologias de produto: bebida (de vinagre de cereja) para consumo direto e morango em pedaços, envolvidos numa calda, para aplicação em iogurte. Todos os ensaios com processamento em alta pressão foram realizados no equipamento pertencente à Universidade de Aveiro com uma capacidade de 55 L e limite de processamento de 600 MPa (Wave 6000/55, Hiperbaric, Espanha). A velocidade de compressão do equipamento é em média de $2500 \text{ bar} \cdot \text{min}^{-1}$ sendo que a descompressão é praticamente instantânea. As embalagens utilizadas são constituídas por multicamadas de PET12/AL7/NY15/LLDPE80 com 118 μm de espessura e baixa permeabilidade ao oxigénio (taxa de transferência de oxigénio $\leq 0,5 \text{ cc/m}^2 \cdot 24 \text{ h} \cdot 0,1 \text{ Mpa}$).

6.1. *Bebida de Vinagre*

A bebida de vinagre de cereja desenvolvida pela Frulact é constituída por água, vinagre clarificado de cereja, concentrado de sumo de cereja ($^{\circ}\text{Brix}$ 65), açúcar, aroma natural de cereja, e ainda por ácido ascórbico (E300). O objetivo deste ensaio foi verificar se o processamento em APH permite aumentar o tempo de vida útil do produto e ainda se permite melhorar as qualidades organoléticas ao longo do tempo.

6.1.1. Processamento e armazenamento

As amostras de bebida de vinagre de cereja em estudo tiveram origem em um único lote de produção, sendo que as amostras de vinagre convencional foram submetidas a pasteurização a quente numa marmita com camisa a vapor, seguindo-se de embalamento a quente (90°C , 5 min) e as amostras que foram submetidas a APH foram recolhidas antes dessa mesma pasteurização, após a mistura e homogeneização de todos os ingredientes. As amostras processadas em APH foram submetidas a 550 MPa durante 5 min a 10°C . Após o processamento, as amostras de bebida de vinagre convencional e tratadas por APH foram armazenadas às temperaturas de 6°C (refrigeração) e de 20°C (temperatura ambiente).

6.1.2. Avaliação da qualidade

As amostras de vinagre convencional e em APH foram analisadas no dia em que foram processadas, no primeiro mês de 15 em 15 dias e de mês a mês nos 7 meses seguintes, a nível físico-químico (pH, sólidos solúveis totais (SST), cor e acidez titulável). Em relação à microbiologia, amostraram-se mesófilos totais e bolores e leveduras aos 15 dias após processamento e no 1 $^{\circ}$, 2 $^{\circ}$, 3 $^{\circ}$,

5º e 7º meses de armazenamento. Em algumas amostragens, ocorreram pequenos desvios de 1 ou 2 dias por razões práticas no decorrer do ensaio.

As 4 amostras de bebida de vinagre (convencional 5 °C, 20 °C e APH a 5 °C e 20 °C) foram analisadas a nível sensorial por um painel não-treinado. O objetivo foi a definição da data limite de consumo para cada produto. No início da análise foram fornecidas as amostras de vinagre convencional para que o painel procedesse à sua análise e após esta foram fornecidas para análise as amostras de vinagre processadas por APH. Não foram fornecidas as 4 amostras de vinagre ao mesmo tempo, de maneira a que os resultados relativos ao vinagre convencional não fossem influenciados pelas amostras em APH. Em Anexo A encontra-se a folha de análise sensorial utilizada. Ao longo do tempo as amostras de bebida de vinagre foram sendo rejeitadas pelo painel. A última análise (parâmetros físico-químicos e microbiologia) a essas amostras decorreu um mês após a rejeição.

6.2. Produto à base de pedaços de morango

O produto de pedaços de morango para aplicação em iogurte foi obtido após um choque térmico entre pedaços de morango congelados e uma calda de açúcar acidificada a 100 °C podendo conter cloreto de cálcio e/ou sorbato de potássio.

Foram analisadas variações no produto que consistem essencialmente na presença ou ausência de cloreto de cálcio e sorbato de potássio na calda, para além dos ingredientes descritos anteriormente e ainda dos dias de infusão a que estão sujeitos antes do processamento em alta pressão.

6.2.1. Processamento e armazenamento

Os pedaços de morango (*Fragaria x ananassa* cv. Camarosa) de origem em Marrocos, sofreram um processo de desinfecção (200 ppm de hipoclorito) prévio ao seu congelamento rápido individual (individually quick freezing - IQF), possuindo um tamanho entre 12 e 16 mm. Todos os ingredientes (exceto os pedaços de morango) foram pesados e transferidos para um reator perfeitamente agitado com capacidade máxima de 8 L. Após agitação e homogeneização, elevou-se a temperatura da calda até aos 100 °C, sendo esta depois vertida sobre os pedaços de morango congelado, em baldes novos e desinfetados com álcool a 70 % (v/v). Após o choque térmico, o produto foi agitado manualmente durante 4 dias, numa média de 3-4 vezes por dia. Esta agitação promoveu a infusão da calda nos pedaços de morango. O objetivo é que este atinja um equilíbrio de SST e pH entre a calda e os pedaços de morango. Durante o processo de infusão, o produto foi mantido à temperatura ambiente. Após este, o produto foi embalado e selado, sendo submetido a APH no mesmo dia. Todos os ensaios em APH foram realizados a 13 °C. Parte das amostras para cada formulação, não sofreu processamento em APH, tendo sido embalada e selada de maneira

idêntica, servindo de controlo para as amostras processadas. Os controlos e as amostras processadas foram mantidos sob refrigeração a 5 °C.

Para melhor compreensão das formulações utilizadas usou-se a seguinte nomenclatura: cloreto de cálcio x sorbato de potássio, onde 0 corresponde a ausência e 1 corresponde a presença, de cada ingrediente na respetiva formulação. Foram realizados 3 estudos no decorrer da análise ao produto. Na tabela 3, estão descritas as formulações analisadas bem como os binómios de pressão e tempo utilizados para o processamento em APH, no decorrer do 1º ensaio ao produto de pedaços de morango. Um 2º ensaio foi realizado por forma a verificar os resultados obtidos no 1º ensaio. Por razões de logística, o 2º ensaio não foi tão abrangente como o 1º, tendo sido escolhidas formulações e o binómio de processamento, de acordo com os resultados do anterior. No 2º ensaio foram realizadas análises microbiológicas relativas a mesófilos totais, bolores e leveduras e mesófilos anaeróbios devido aos resultados do 1º ensaio.

Tabela 3: Quadro resumo dos binómios de processamento aplicados a cada formulação do produto com pedaços de morango e ainda os dias de infusão a que foram submetidos, para cada estudo desenvolvido no decorrer do 1º ensaio.

Estudos	Pressão (MPa), <i>Holding</i>	Dias infusão	Cloreto de Cálcio x Sorbato de Potássio
Microbiologia	450,5'	4	0x0 1x0 1x1
	550,5'	4	1x0 1x1
	550,10'	4	1x0 1x1
	100,5' + 450,5'	4	1x0
Cálcio	450,5'	4	0x0 1x0
	600,5'	4	0x0 1x0
Dias de Infusão	450,5'	4-10	0x0 1x0 1x1
	550,5'	4-10	1x0

De forma a avaliar o impacto da congelação no produto, foram congelados os 3 controlos das formulações e ainda os binómios 450,5' 0x0, 450,5' 1x0 e 550,5' 1x0. As amostras congeladas foram acondicionadas da mesma forma que as amostras em refrigeração.

6.2.2. Avaliação da qualidade

O controlo de cada formulação foi analisado a nível microbiológico e físico-químico (pH, SST, cor e firmeza) aos 0, 3, 15 e 30 dias sendo que as amostras submetidas em APH foram analisadas

aos 3, 15, 30, 45 e 60 dias após o processamento, sendo que 0 corresponde ao dia em que os produtos foram embalados. No segundo ensaio realizado, as amostras controle foram analisadas aos 0, 15, 30, 40 e 50 dias e as amostras processadas em APH aos 0, 15, 30, 40, 50, 60 e 90 dias. Ocorreram pequenos desvios de amostragem devido a razões práticas, de 1 a 2 dias.

6.3. Determinações analíticas

6.3.1 pH, teor em sólidos solúveis totais e acidez titulável

Os valores de pH das amostras foram obtidos recorrendo a um potenciômetro com compensação automática de temperatura, previamente calibrado com soluções padrão de pH 1,68, 4,00 e 7,00 (C860, Consort, Bélgica). Já em relação aos SST utilizou-se um refratômetro (GPR 12-70, Instrumentos index, USA).

Para a determinação da acidez, procedeu-se à titulação potenciométrica (C860, Consort, Bélgica) de 25mL da amostra (vinagre) com solução de hidróxido de sódio, NaOH 0,25M. Esta titulação decorreu de acordo com a norma NP EN 12147. A titulação decorreu até que o pH ultrapasse-se o valor de 8,1, tendo sido recolhidos valores de pH e volume de NaOH ao longo do tempo, permitindo depois por regressão linear, obter o valor de volume gasto para um pH de 8,1.

6.3.2. Atividade da água

A atividade da água, a_w , é um fator importante no processamento em APH, como referido anteriormente, sendo que os valores de atividade da água das várias amostras do produto de pedaços de morango foram obtidos por um medidor de atividade da água (HydroLab 3, Rotronic, Brathersdorf) em triplicado.

6.3.3. Cor

A medição de cor das bebidas de vinagre de cereja e do produto de pedaços de morango foi realizada com um colorímetro (CR-400, Konica Minolta, Japão) com um iluminante D65, previamente calibrado numa placa de cerâmica branca. Os valores de luminosidade (L^*), as coordenadas cartesianas a^* e b^* , bem como a intensidade da cor C^* e tonalidade (h°) foram registados em triplicado para cada amostra. Nas medições do produto de pedaços de morango, para os valores de (h°) que se situaram nos extremos na escala (0-360), os valores superiores (>300) foram transformados em valores negativos pela subtração do limite superior (360), de forma a que as médias obtidas fossem o mais próximo da realidade.

6.3.4. Firmeza

Para a obtenção dos valores de firmeza dos pedaços de morango recorreu-se a um texturómetro TA-XT Plus (Stable Micro Systems, Reino Unido). Foram recolhidos no mínimo 6 valores de textura para cada amostra. O texturómetro está equipado com um prato de compressão de 75 mm que comprime a amostra por 4mm a uma velocidade de 1mm/s. O valor da força máxima de

compressão (Software Texture Exponent 32, Stable Micro Systems, Reino Unido) é utilizado como medida da firmeza.

6.3.5. Microbiologia

Para além dos microrganismos (mesófilos totais) em que a temperatura ótima de crescimento ronda os 30 °C (próximo da temperatura corporal humana), foram também realizadas análises a microrganismos para se verificar se os produtos desenvolvidos possuíam os níveis de segurança alimentar exigidos pela Frulact. No produto de morango efetuou-se a preparação da amostra e a diluição antes de proceder ao plaqueamento para determinação da flora mesófila total, bolores e leveduras e microrganismos formadores de esporos. Para a determinação de flora mesófila aeróbia total e de bolores e leveduras nas amostras da bebida de vinagre procedeu-se ao plaqueamento direto em meio PCA e YGC, conforme descrito em baixo. A composição dos meios utilizados pode ser encontrada no Anexo B.

Microrganismos a 30 °C ou Flora Total

Para a quantificação de microrganismos a 30 °C determinaram-se as unidades formadoras de colónias num grama de produto. Em relação ao produto de pedaços de morango, foi necessário levar este a um homogeneizador BAGMIXER® 400 (Interscience, França) durante 60 segundos antes de se proceder à primeira diluição, para tal transferiu-se o produto para sacos estéreis e adaptados ao equipamento (Stomacher® bag, Seward, Reino Unido). Procedeu-se a uma diluição de 1:10 do produto em meio diluente de recuperação máxima, MRD (Liofilchem, Itália), suplementado com Tween 80, em frascos de 100 mL estéreis, seguindo-se de homogeneização (suspensão-mãe). Estes procedimentos foram realizados junto à chama num Bico de Busen. Numa câmara de fluxo laminar (SmartFAST, SRL, Itália), efetuaram-se o número de diluições necessárias, retirando 1mL da suspensão-mãe para um tubo de ensaio contendo 9 mL de MRD (diluição 1:10), e assim sucessivamente. Em duplicado, procedeu-se à sementeira, pela técnica de incorporação, de 1mL da suspensão-mãe e respetivas diluições em meio de cultura agar contagem de placas, PCA (Merck, Alemanha). As placas permaneceram durante 72 ± 3 horas a 30 ± 1 °C, após o qual procedeu-se à contagem do número de colónias. Este procedimento está de acordo com a norma NP 4405:2002.

Bolores e Leveduras

A preparação das soluções-mãe e respetivas diluições, para a quantificação de bolores e leveduras procedeu de igual modo como descrito anteriormente. De seguida, procedeu-se à sementeira em duplicado, incorporando 1mL da suspensão-mãe e respetivas diluições, em duplicado, em meio de cultura agar levedura glicose cloranfenicol, YGC Agar (Liofilchem, Itália). As placas permaneceram a 25 ± 1 °C durante 5 dias procedendo-se depois à contagem do número de colónias.

Microrganismos termorresistentes, Mesófilos e Termófilos Aeróbios e Anaeróbios

Para a quantificação de microrganismos termorresistentes, mesófilos aeróbios e anaeróbios, a solução-mãe foi preparada de acordo com a metodologia para microrganismos a 30 °C, tendo em conta que o meio de cultura utilizado foi água peptonada tamponada, BPW (Liofilchem, Itália) em frascos de 500mL previamente esterilizados. Transferiram-se 40mL da suspensão-mãe para tubos de Falcon, os quais foram colocados a 80 ± 1 °C em banho-maria. Após 10 minutos, realizou-se um arrefecimento rápido em água fria, originando um choque térmico. Em duplicado, procedeu-se à sementeira, pela técnica de incorporação, de 1mL da suspensão-mãe em meio de cultura PCA e meio clostridial reforçado, RCM (Merck, Alemanha), respetivamente em meio aeróbio e anaeróbio (Oxoid Anaerobic Jar, Oxoid AnaeroGen, Oxoid AnaeroIndicator, Reino Unido). Para quantificação de mesófilos, as placas respetivas permaneceram 72 ± 3 horas a 30 ± 1 °C, sendo que para termófilos permaneceram a 55 ± 1 °C durante 48 ± 2 horas.

Cálculo de unidades formadoras de colónias

A contagem de unidades formadoras de colónias de microrganismos a 30 °C foi realizada de acordo com a norma NP 4405:2002. Para placas contendo menos de 15 colónias obteve-se o número estimado de microrganismos (N_E) por mL ou por grama, em que N_E é o número de colónias contadas na placa a dividir pelo fator de diluição da solução-mãe. No caso, de não existir qualquer colónia em placa (limite de deteção), o resultado será inferior a 1 colónia por mL (no caso de produtos líquidos) ou por grama, se dividido pelo fator de diluição da solução-mãe (para outros produtos). O procedimento para obter um número estimado de microrganismos é aplicado pela Frulact. Este procedimento foi igualmente seguido para todos os microrganismos.

6.4. Análise Estatística

A análise estatística foi realizada com o programa *SPSS Statistics 22*. Através da análise de variâncias com *One-Way ANOVA* foi possível verificar se existiam diferenças significativas entre amostras (letras minúsculas) e para cada amostra ao longo do tempo (letras maiúsculas). Foi utilizado o teste de Tukey para comparações múltiplas quando ($p < 0,05$). Letras diferentes (apresentadas nas figuras e tabelas de resultados obtidos) representam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

Apesar de ocasionalmente as amostras do produto à base de pedaços de morango variarem estatisticamente ao longo do tempo, estas foram consideradas não relevantes. Esta análise é apresentada em Anexos C e D. Para melhor compreensão de resultados obtidos determinou-se um intervalo de confiança a 95% para cada parâmetro.

7. Resultados e Discussão

Apresentam-se de seguida os resultados obtidos no decorrer da monitorização dos produtos desenvolvidos. Pretende-se comparar o processamento em APH com o processamento convencional (a pasteurização térmica), para a bebida de vinagre de cereja, e ainda verificar o efeito da APH no produto à base de pedaços de morango. Em ambos os produtos, pretende-se que as características sensoriais e organoléticas dos produtos se mantenham ao longo do armazenamento e que a segurança alimentar destes esteja assegurada. A extensão da vida útil dos produtos processados em APH foi ainda analisada.

7.1. *Bebida de vinagre de cereja*

A bebida de vinagre de cereja foi submetida a dois processamentos diferentes, o método convencional, a pasteurização térmica e o processamento em APH por 550 MPa durante 5 minutos a 10 °C. Para diminuir variabilidades do produto, as amostras respetivas a cada processamento, tiveram origem no mesmo lote de produção.

Todas as análises de microbiologia realizadas à bebida de vinagre permaneceram no limite de deteção (unidades formadoras de colónias, UFC <1 colónia por mL) para mesófilos totais e bolores e leveduras. Estes resultados podem ser devidos ao pH baixo do produto, que levará à inativação de alguns microrganismos (Beales, 2004), mas também às matérias-primas utilizadas (vinagre clarificado de cereja e concentrado de sumo de cereja) que apresentaram carga microbiológica no limite de deteção, bem como os parâmetros processuais de pasteurização e embalagem a quente.

As diferenças de SST nas amostras processadas por APH e pelo procedimento convencional, resultaram da perda de água pelo método convencional devido à temperatura a que o produto foi submetido. Os resultados obtidos de pH, SST e acidez titulável em apresentados em Anexo E.

A análise sensorial à bebida de vinagre permitiu perceber que a temperatura tem um efeito negativo nas qualidades sensoriais do produto e que o tipo de processamento influencia a degradação do produto ao longo do tempo. Parâmetros como “apreciação global”, “sabor”, “aparência/aspecto” e “cor” das amostras fornecidas foram avaliados positivamente pelos provadores (Figuras 6 e 7), sendo que nestes parâmetros as amostras refrigeradas não apresentaram diferenças estatisticamente diferentes até aos 150 dias ($p > 0,05$). Os restantes parâmetros da análise sensorial apresentam-se no Anexo E. A amostra convencional armazenada à temperatura ambiente foi rejeitada aos 90 dias, atendendo a que na “apreciação global” e na “aparência/aspecto” o valor médio atribuído foi inferior a 5 (que representa “Indiferente”), sendo que no parâmetro “aparência/aspecto”, a amostra é estatisticamente diferente de todas as amostras ($p < 0,05$). A amostra processada em APH com armazenamento a 20 °C foi excluída aos 150 dias (60 dias após a rejeição da amostra convencional

nas mesmas condições) sendo que nos parâmetros “apreciação global”, “sabor” e “aparência/aspecto” o valor médio atribuído foi inferior a 5 e estatisticamente diferente das restantes amostras analisadas pelo painel ($p < 0,05$). Em relação a “cor” a amostra processada em APH com armazenamento a 20 °C é estatisticamente idêntica às amostras refrigeradas ($p > 0,05$).

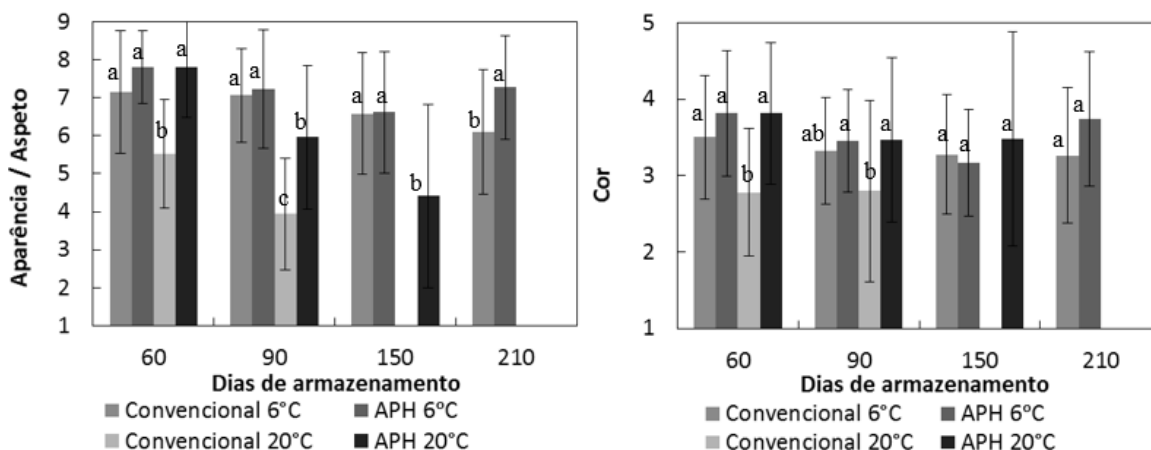


Figura 6: Resultados dos parâmetros ‘Aparência Global’ e ‘Sabor’ da análise sensorial

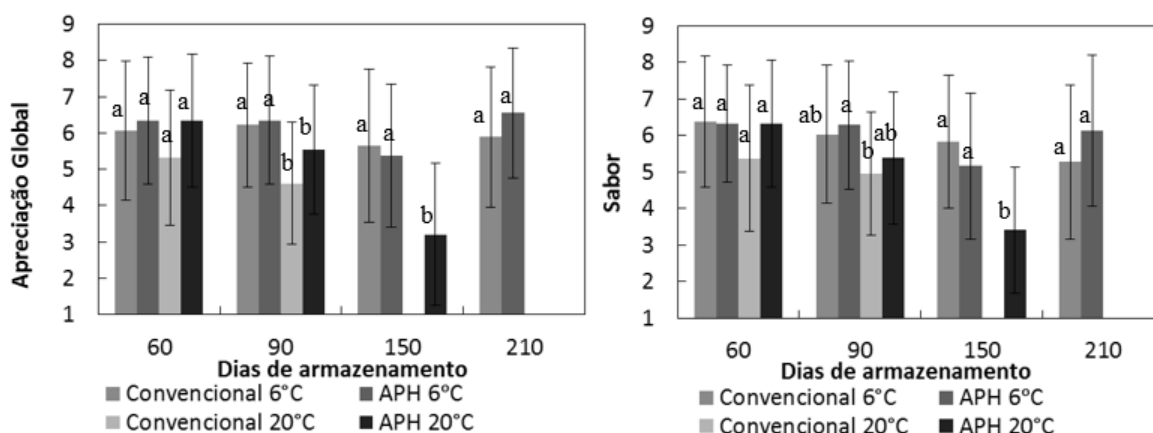


Figura 7: Resultados dos parâmetros ‘Aparência/Aspecto’ e ‘Cor’ da análise sensorial.

Durante o armazenamento das amostras ao longo do tempo, ocorreram variações de cor. Estas variações de cor estão apresentadas na Figura 8, pelas coordenadas cartesianas a^* e C^* , para temperatura de armazenamento de 6 °C (refrigeração) e 20 °C (temperatura ambiente), para os dois tipos de processamento em estudo, sendo que os respectivos resultados estatísticos apresentam-se em Anexo E. Na Figura 8A, é possível verificar um decréscimo da coordenada cartesiana a^* , sendo que este decréscimo é mais evidente para armazenamento a 20 °C nos dois tipos de processamento ($p < 0,05$ ver Anexo E). Para o produto convencional, em armazenamento em refrigeração, o decréscimo da coordenada a^* é visível aos 180 e 210 dias sendo que são estatisticamente diferentes

($p<0,05$). Quando armazenadas a 20 °C esta tendência é igualmente visível, sendo que para 60, 90 e 120 dias a amostra apresenta diferenças estatisticamente significativas ($p<0,05$).

O comportamento do produto pasteurizado a quente é similar ao produto processado em APH (ao longo do tempo). Tendo em conta os dois processamentos (convencional e APH), estes apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p<0,05$) a partir dos 120 dias para as duas temperaturas de armazenamento.

A amostra com processamento em APH é significativamente diferente aos 180 dias (em relação aos primeiros 60 dias de armazenamento) e aos 210 dias em refrigeração. Para armazenamento à temperatura ambiente existem diferenças estatísticas aos 60, 90, 120, 150 e 180 dias.

É importante ainda referir que a pasteurização térmica tem um impacto negativo neste parâmetro, visto que o valor da coordenada a^* de pré-mix (0 dias) é estatisticamente diferente dos restantes dias, exceto aos 60 dias do armazenamento a 6 °C, onde o valor médio aumentou ligeiramente.

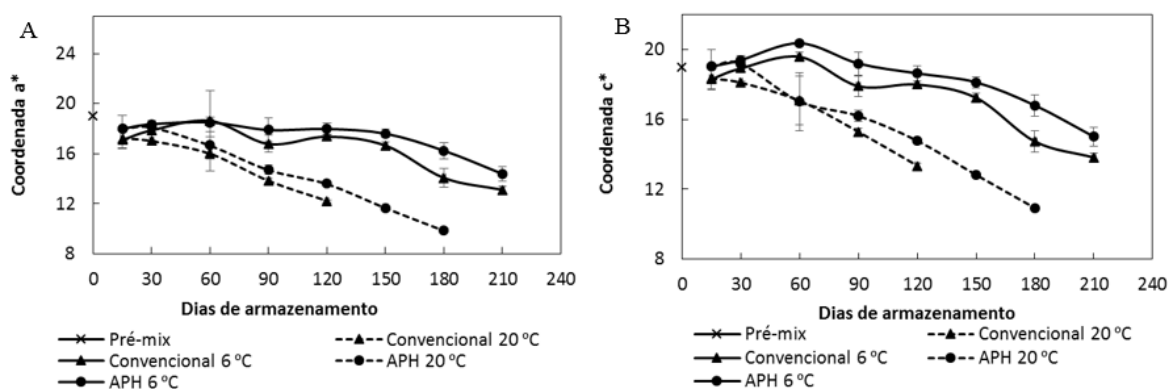


Figura 8: Evolução das coordenadas a^* e C^* ao longo do tempo para a bebida de vinagre de cereja

Este decréscimo da coordenada a^* é traduzido por uma diminuição da cor vermelha das amostras. É possível também verificar uma diminuição da coordenada C^* (Figura 8B) que representa a diminuição da intensidade da cor. Mais uma vez, este decréscimo é menos evidente para o armazenamento sob refrigeração. A tonalidade das amostras é também ligeiramente diferente para as duas temperaturas das amostras. Em relação às amostras convencionais, a diminuição de C^* é estatisticamente diferente para os 150, 180 e 210 dias em refrigeração ($p<0,05$), sendo que à temperatura ambiente este decréscimo é estatisticamente visível aos 60, 90 e 120 dias ($p<0,05$). As amostras processadas em APH refrigeradas apresentam diferenças estatísticas ($p<0,05$) aos 180 e 210 dias, sendo que quando armazenadas à temperatura ambiente estas diferenças estatísticas ($p<0,05$) verificam-se a partir dos 60 dias, apesar de que estatisticamente a amostra não apresenta diferenças aos 60 e 90 dias ($p>0,05$). A partir dos 60 dias é possível verificar que existem diferenças estatisticamente significativas entre amostras (processamento e temperatura de armazenamento) em

relação a cada dia de amostragem ($p < 0,05$). Verifica-se ainda que seguem uma tendência, sendo que as amostras processadas em APH apresentam uma média superior às amostras convencionais para cada temperatura de armazenamento, sendo que as amostras armazenadas à temperatura ambiente possuem as médias mais baixas.

Apesar do comportamento entre processamentos ser similar, observa-se que o produto processado em APH não perde as suas características (relativas à cor) tão rapidamente quanto o produto convencional.

A variação total da cor, ΔE , foi calculada através da Equação 1, e dos parâmetros de luminosidade, L, coordenada a^* e b^* em relação aos valores obtidos do pré-mix. De notar que a coordenada b^* nos dois tipos de processamento tende a aumentar ao longo do tempo (em Anexo E), levando a que as amostras características mais amarelas e menos azuladas. A combinação da evolução dos parâmetros de cor apresentados leva a que as amostras tendam a perder a cor vermelha inicial e adquiram um tom acastanhado.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^2 + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})} \quad \text{Equação 1}$$

É possível verificar, na Figura 9, que a variação total da cor é maior quando as amostras são armazenadas a 20 °C, independentemente do tipo de processamento. Este resultado é concordante com os resultados apresentados anteriormente. Apesar disto, para o mesmo tempo de processamento, as amostras processadas em APH apresentam menores valores de ΔE , em comparação com as amostras convencionais. Isto indica que aquando do processamento em APH a variação da cor é menor em comparação com a pasteurização térmica.

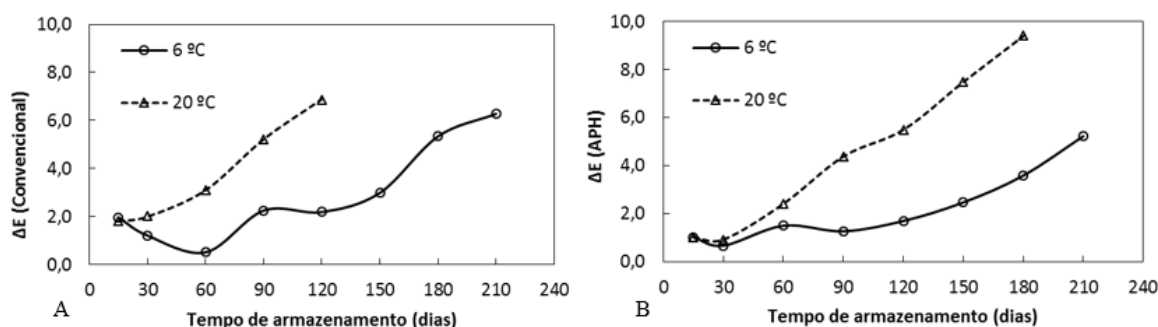


Figura 9: Variação total da cor para processamento convencional (A) e em APH (B) da bebida de vinagre de cereja

A Figura 10 apresenta as amostras em estudo aos 120 dias após processamento. De realçar a cor mais viva e avermelhada das amostras processadas por APH em comparação com as amostras convencionais.

Com estes resultados é possível então concluir que o processamento em APH traduz melhores resultados no produto do que a pasteurização térmica ao longo do tempo, pelo que o

processamento a APH permite uma extensão do prazo de validade do produto. É possível concluir ainda que, o produto deverá ser refrigerado para que a validade seja estendida, não estando esta ainda definida (necessário mais tempo de análise visto que as amostras ainda não foram excluídas pelo painel de provadores da análise sensorial). No último dia de amostragem a bebida convencional aparenta uma maior degradação de cor, sendo que a bebida processada em APH tem uma cor mais viva e avermelhada, Figura 11.

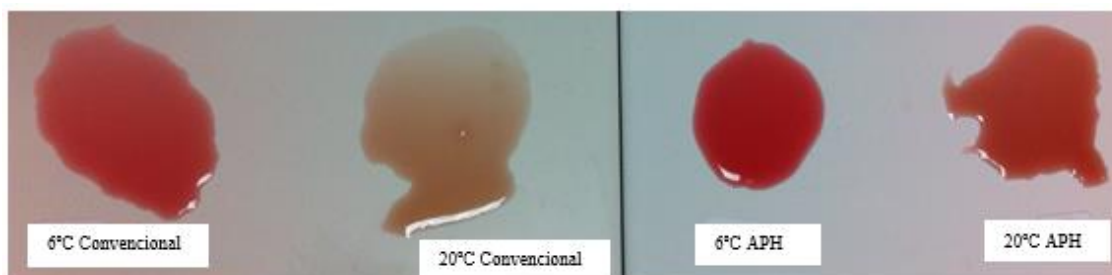


Figura 10: Amostras convencionais e em APH armazenadas a 6 °C e 20 °C da bebida de vinagre de cereja aos 120 dias de armazenamento

As variações de cor obtidas poderão estar relacionadas com a degradação de antocianinas. Segundo Ioannou, Hafsa, et al. (2012) a temperatura de armazenamento é importante para que esta degradação seja minimizada, sendo que os melhores resultados ocorrem quando os produtos são armazenados sob refrigeração. Kouniaki, Kajda, et al. (2004) referem também que a refrigeração após processamento em APH é importante para diminuir a degradação de antocianinas, sendo que a 20 °C a degradação destas é maior e que esta degradação pode ser provocada por reações enzimáticas (por ex. PPO). Outro fator que leva a uma maior degradação de antocianinas apresentada por estes autores é a presença de ácido ascórbico que está também presente na formulação da bebida desenvolvida. O ácido ascórbico acelera a degradação de antocianinas tanto de amostras não processadas como processadas termicamente e por APH. Zabetakis, Leclerc, et al. (2000) referiram que a perda de antocianinas é tanto maior quanto maior for a temperatura de armazenamento e menor for a pressão aplicada em APH. Visto que a bebida de vinagre de cereja foi processada praticamente no limite de processamento do equipamento (550 MPa), não seria espectável uma melhoria dos resultados para o limite superior de processamento (600 MPa).

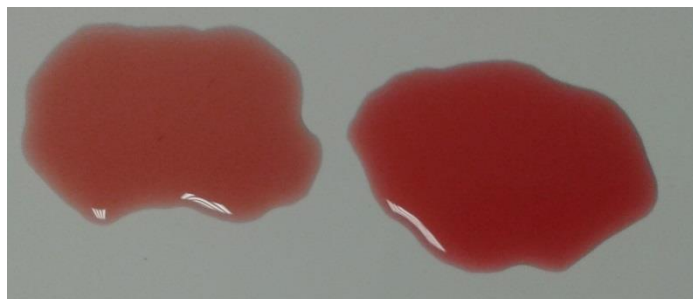


Figura 11: Amostra convencional (esquerda) e processada em APH (direita) no último mês de amostragem (7 meses)

Tendo em conta os resultados obtidos, foi realizado um estudo para verificar se alterações de cor na bebida de vinagre de cereja resultaram da degradação de antocianinas por reações enzimáticas. Neste sentido foram produzidas duas amostras da bebida, sendo que numa delas foi adicionado metabissulfito de sódio (E223), conhecido inibidor de reações de escurecimento enzimático (Favero, Ribeiro, et al., 2011). As amostras foram pasteurizadas a quente na Frulact, sendo de seguida embaladas e armazenadas a 30 °C. A temperatura de armazenamento de 30 °C foi escolhida tendo em conta que se pretendia um teste rápido de avaliação do impacto de um inibidor enzimático (em 2 meses), e a esta temperatura espera-se que as perdas por atividade enzimática sejam superiores dado o aumento da atividade catalítica (Zabetakis, Leclerc, et al., 2000).

O ΔE das duas amostras analisadas não apresenta o mesmo valor, Figura 12, sendo que a adição de E223 permite que a alteração de cor da bebida de vinagre de cereja não seja tão evidente quanto à amostra sem adição de E223. Fatores como o pH e SST permaneceram dentro do limite de especificação do produto, não podendo então justificar as variações de cor das amostras (em Anexo F). Uma possível justificação para a diferença na variação da cor das duas amostras poderá recair na inibição de reações enzimáticas por parte do metabissulfito de sódio. Estas reações enzimáticas poderão promover a degradação de antocianinas, naturalmente presentes no sumo de cereja utilizado para a produção da bebida. Apesar disto, a degradação de antocianinas poderá não ser a única razão pela qual existem variações de cor com o tempo de armazenamento da bebida, sendo que a adição de metabissulfito de sódio poderá também não ser suficiente para a inibição de todas as reações enzimáticas que possam ocorrer.

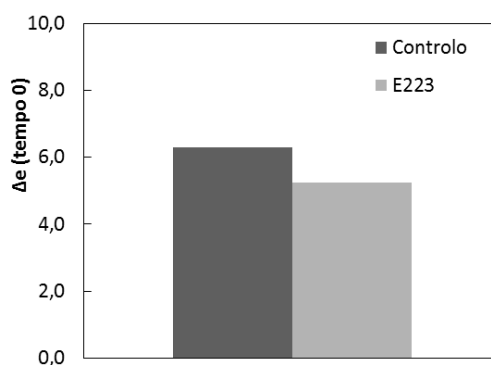


Figura 12: Variação total da cor do controlo e da bebida de vinagre de cereja com metabissulfito de sódio

O processamento em APH poderá inibir enzimas responsáveis por esta degradação, levando a que o produto consiga manter as suas características originais por mais tempo do que as amostras convencionais, o que poderia justificar os resultados das Figuras 10 e 11.

7.2. Produto à base de pedaços de morango

No desenvolvimento do produto à base de pedaços de morango foram realizados, numa primeira fase, três estudos distintos: ‘Microbiologia’, ‘Dias de Infusão’ e ‘Cálcio’ . O objetivo do estudo ‘Microbiologia’ foi obter o melhor binómio de pressão e tempo de processamento em APH para cada formulação do produto, tendo em conta a carga microbiológica que estava presente neste ao longo do seu tempo útil. O estudo ‘Dias de Infusão’ permitiu verificar se existe alguma relação entre os dias de infusão e a firmeza/aparência/gelatinização dos pedaços de morango após processamento em alta pressão. Para tal, foram também submetidas a alta pressão, amostras que só ao fim de 10 dias a contar do dia da produção foram processadas, ao contrário do procedimento normal (~4dias). Já o estudo ‘Cálcio’ permitiu verificar se a presença de cloreto de cálcio protege a carga microbiológica, e ainda se a presença deste potencia um aumento de firmeza nos pedaços de morango. Foi ainda estudado o impacto da congelação na carga microbiológica e na firmeza do produto.

Em relação aos controlos das formulações em estudo, estes são foram analisados durante 30 dias devido ao prazo de validade definido pela Frulact para este produto. Pretendeu-se ainda verificar se o processamento em APH permite aumentar o prazo de validade do produto.

Antes da discussão dos três estudos apresentam-se os resultados mais relevantes dos parâmetros físico-químicos em relação as amostras analisadas.

7.2.1. Parâmetros Físico-Químicos

Durante o desenvolvimento do produto à base de pedaços de morango foram detetadas diferenças nos parâmetros físico-químicos entre formulações e entre controlos e binómios de processamento. Em relação ao pH, existiram diferenças entre as três formulações em estudo, apresentadas na Tabela 4. A formulação 1x0 apresenta um menor intervalo de confiança a 95% para o pH em relação às formulações 0x0 e 1x1. Este facto deve-se à interação entre a concentração de ácido cítrico e de sorbato de potássio. Esta interação foi descrita por Menezes, Borges, et al. (2009) para doce de goiaba. Para além desta variação de pH, é preciso ter em conta a interação entre ácido cítrico e cloreto de cálcio, que leva a uma diminuição de pH. O teor de sólidos soluveis está dentro das especificações do produto nas 3 formulações (Anexo F). É importante referir que a especificação de pH pela Frulact é para a formulação com sorbato de potássio visto que a empresa não processa termicamente o produto. Apesar das diferenças de pH entre formulações não aparenta existir qualquer relação entre pH e inativação por APH para os binómios estudados, devidos aos resultados do estudo de Microbiologia apresentados mais à frente.

Tabela 4: Valores médios e respetivos intervalos de confiança (I.C.) a 95% para pH e SST das formulações em estudo.

Formulação	pH (média ± I.C.)	SST (°Brix) (média ± I.C.)
0x0	3,23 ± 0,01 ^a	45,4 ± 0,1 ^b
1x0	3,04 ± 0,01 ^b	46,4 ± 0,1 ^a
1x1	3,21 ± 0,01 ^a	46,2 ± 0,2 ^a

O processamento em APH provocou uma alteração de cor nos pedaços de morango, sendo que não se verificaram alterações significativas ao longo do tempo de armazenamento. É importante referir que o ácido cítrico presente na formulação do produto é um conhecido inibidor enzimático sendo que o seu efeito poderá justificar a não variação de cor ao longo do tempo (Pizzocaro, Torreggiani, et al., 1993). A alteração de cor após processamento tornou os pedaços mais escuros, tendo estes deixado de possuir uma cor vermelho vivo característica do produto sem processamento. Não se verificaram diferenças entre formulações nem entre binómios de processamento, com excepção do binómio 450,5' para a formulação 1x0 que adquiriu um tom vermelho escuro em comparação com os outros binómios, Figura 13. Este binómio, devido a um erro de etiquetagem, teve que voltar a ser produzido e processado. Para tal, foi utilizado o mesmo lote de pedaços de morango sendo que a alteração de cor não deverá estar relacionada com este.

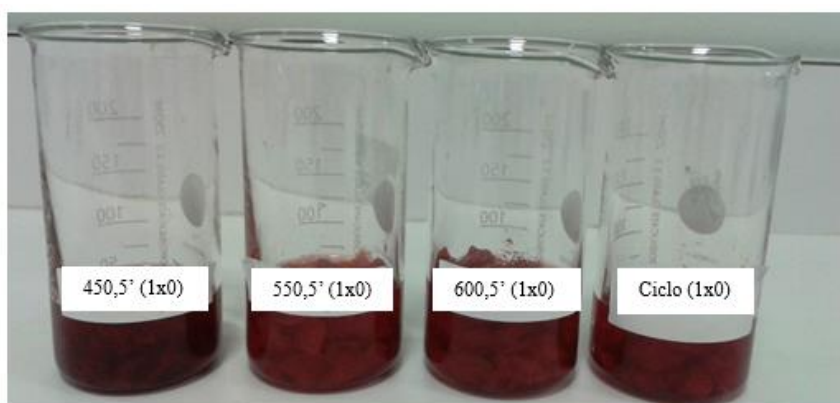


Figura 13: Binómios em estudo para a formulação 1x0

Na Figura 14 é possível verificar a alteração visual da cor entre controlos e binómios de processamento, sendo que esta é também verificada pelos intervalos de confiança dos parâmetros de cor apresentados na tabela 5. Comparando os resultados é possível verificar que os controlos do produto adquirem uma cor mais vermelha e mais clara, sendo mais intensa e com maior tonalidade do que as amostras processadas em APH. Por outro lado, o binómio 450,5' 1x0, apresenta-se mais

escuro e menos vermelho (parâmetros L^* e a^*) do que os restantes binómios sendo que perde intensidade de cor. Estes resultados vão de encontro com as percepções visuais da cor das várias amostras analisadas.

Tabela 5: Valores médios e respetivos intervalos de confiança (I.C.) a 95% para os parâmetros de cor dos controlos, binómios de processamento exceto 450,5' 1x0, e para o binómio 450,5' 1x0.

Parâmetro de cor	Controlos (média \pm I.C.)	Binómios de processamento (média \pm I.C.)	Binómio (450,5' 1x0) (média \pm I.C.)
L^*	25,54 \pm 0,79	19,38 \pm 0,24	17,62 \pm 0,63
a^*	28,26 \pm 0,80	23,75 \pm 0,25	22,52 \pm 1,06
b^*	7,44 \pm 0,91	3,24 \pm 0,21	0,83 \pm 0,75
C^*	29,37 \pm 1,00	23,99 \pm 0,29	22,72 \pm 1,01
h°	14,10 \pm 1,39	7,38 \pm 0,44	3,00 \pm 2,85
aw	0,903 \pm 0,003	0,891 \pm 0,003	0,891 \pm 0,010

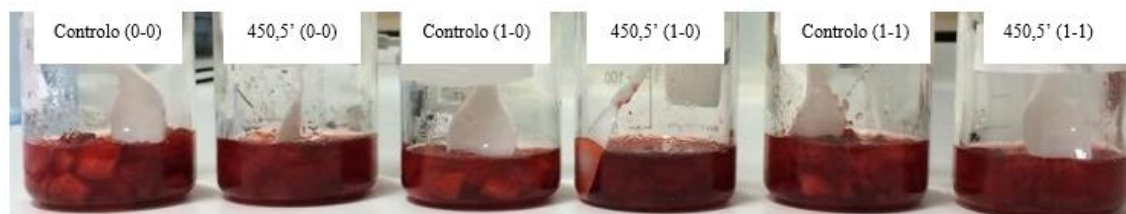


Figura 14: Comparação da cor entre controlos e binómios de processamento

Na Figura 15 é possível verificar que a calda das amostras não sofreu alteração por processamento em APH, pelo que é possível que as alterações de cor dos pedaços possam ser devidas a alterações estruturais, o que levará a que ocorra uma alteração na difusão da luz (MacDougall, 2002). Estes resultados estão de acordo com a literatura no que diz respeito à estabilização de antocianinas presentes no morango após processamento em APH, devido à inativação enzimática (Garcia-Palazon, Suthanthangjai, et al., 2004).

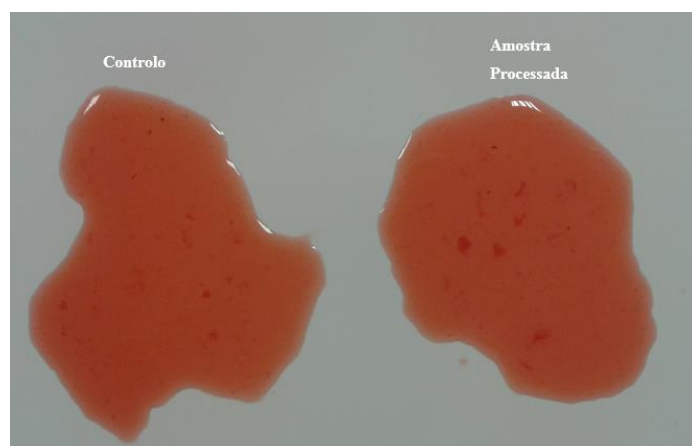


Figura 15: Calda da amostra sem processamento e com processamento em APH

Apesar dos resultados estatísticos relativos à firmeza dos pedaços de morango (Anexo C), sensorialmente alguns provadores referiram diferenças entre a firmeza dos pedaços de morango sem processamento e com processamento em APH. Aparentemente, os pedaços de morango processados em APH são mais firmes do que os pedaços sem processamento. Miguel-Pintado, Nogales, et al. (2013) referiram também que o processamento de nectarinas após infusão de lactato de cálcio promoveu o aumento de firmeza. Não foram referidas pelos provadores diferenças ao longo do tempo para o produto sem processamento (controlo).

De seguida são apresentados os resultados mais relevantes para cada estudo desenvolvido ao produto.

7.2.2. Microbiologia

O estudo de microbiologia permitiu verificar se existiam diferenças na carga microbiológica do produto em função do binómio de processamento utilizado. De acordo com os resultados obtidos foi então possível determinar o melhor binómio de processamento. Os binómios em estudo foram selecionados tendo em conta a literatura existente referente à inativação de microrganismos (Smelt, 1998) e ainda o limite superior de pressão a que o equipamento pode processar. Outro fator tido em conta foi o *holding* (5/10 minutos). De acordo com a literatura foi ainda testado um ciclo de pressão com vista a um impacto sobre a carga esporulada do produto (Smelt, 1998).

Na Figura 16 apresentam-se as evoluções das cargas mesófila aeróbia total (A,C,E) e esporulada (B,D,F) em função da formulação em estudo (formulação 0x0 – A,B; formulação 1x0 – C,D; formulação 1x1 – E,F), sendo que os restantes microrganismos estão apresentados no Anexo C (microrganismos termófilos e mesófilos anaeróbios esporulados permaneceram quase sempre no limite de deteção). Tendo em conta valores guia (Santos, Correia, et al., 2005), todas as amostras permaneceram abaixo do limite para a classificação satisfatória, exceto o controlo 0x0 aos 30 dias. Analisando as cargas mesófila aeróbia esporulada não parece existir uma tendência de comportamento ao longo do tempo para os vários binómios em estudo. É importante ainda relembrar que o pH baixo das amostras (Tabela 4) poderá inativar o crescimento de microrganismos presentes nos pedaços de morango (Beales, 2004) e que o valor médio da atividade da água das amostras é relativamente alto para que a inativação em APH dos microrganismos possa decorrer, apesar de que se a atividade da água fosse mais elevada era espectável uma maior inativação (Palou, Lopez-Malo, et al., 1997; Smelt, 1998).

Na formulação 0x0 não se verificaram diferenças entre os binómios de processamento em estudo. Poderá existir uma tendência para o aumento da carga mesófila total depois dos 30 dias. Não se verificam diferenças relevantes entre binómios e controlo na carga esporulada. Para a formulação 1x0 a carga mesófila do controlo aparenta ser superior à dos binómios com exceção aos 15 dias para

450,5' e aos 30 dias para 550,10'. Em relação à carga esporulada parece existir uma tendência para que a carga esporulada nos binómios ser superior à do controlo. Por último, a formulação 1x1 apresenta um binómio, 550,10', com uma carga total e esporulada superior ao controlo e todos os binómios. Aos 30 dias o controlo apresenta uma carga mesófila total e esporulada superior em relação aos restantes binómios (exceto o anterior). Diferenças da carga microbiológica entre formulações processadas em APH parecem não ocorrer. Um fator que poderá influenciar a inativação de microrganismos no produto à base de pedaços de morango é o alto teor de sólidos solúveis (Stewart, Dunne, et al., 2000). Para verificar se esta hipótese é válida para o produto em estudo dever-se-ia submeter a APH o mesmo produto com um menor teor de SST. Seria de esperar um aumento da inativação de microrganismos.

Miguel-Pintado, Nogales, et al. (2013) referiram também que o processamento de nectarinas em APH levou a uma redução ligeira da carga microbiana, sendo que a carga da amostra processada em APH aos 30 dias era reduzida enquanto o controlo apresentava deterioração microbiana. Estes resultados vão de encontro aos da formulação 0x0 onde a carga do controlo aumentou ao longo do tempo, e as amostras processadas permaneceram relativamente constantes ao longo do tempo.

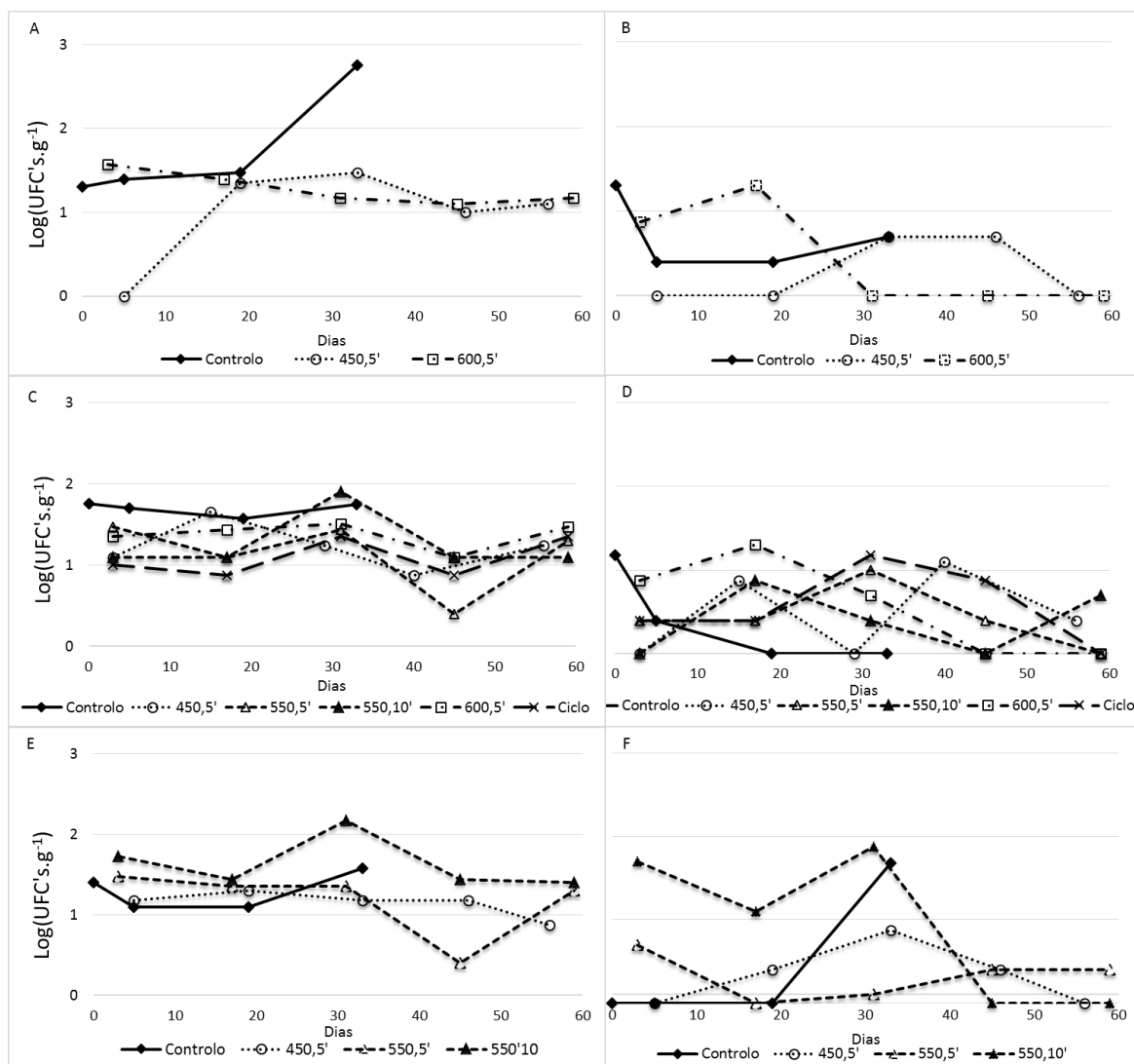


Figura 16: Evolução da carga mesófila total (A,C,E) e aeróbia esporulada (B,D,F) dos binómios do estudo 'Microbiologia' e respetivos controlos de formulação em estudo (formulação 0x0 - A,B; formulação 1x0 - C,D; formulação 1x1 - E,F)

A carga de bolores e leveduras de todas as amostras processadas em APH permaneceram no limite de detecção ao longo de todo o tempo de amostragem. O mesmo não foi verificado para os controlos das três formulações estudadas. A figura 17 apresenta a carga de bolores e leveduras para as 3 formulações. É possível verificar que a formulação 1x1 apresenta carga aos 0 dias sendo que nos restantes permanece no limite de detecção tal como esperado pelo efeito do sorbato de potássio em bolores e leveduras (Hui, 2006). A carga de bolores e leveduras da formulação 1x0 tende a diminuir ao longo do tempo de armazenamento estando aos 30 dias no limite de detecção, enquanto que a formulação 0x0 apresenta carga superior aos restantes dos controlos, exceto aos 30 dias em que permaneceu no limite de detecção. Verifica-se portanto que o processamento em APH com pressão a 450 MPa ou superior inativa bolores e leveduras, tal como descrito na literatura (Guerrero-

Beltran, Barbosa-Canovas, et al., 2004; Smelt, 1998), sendo que o processamento é suficiente para que a formulação do produto não necessite de sorbato de potássio como conservante.

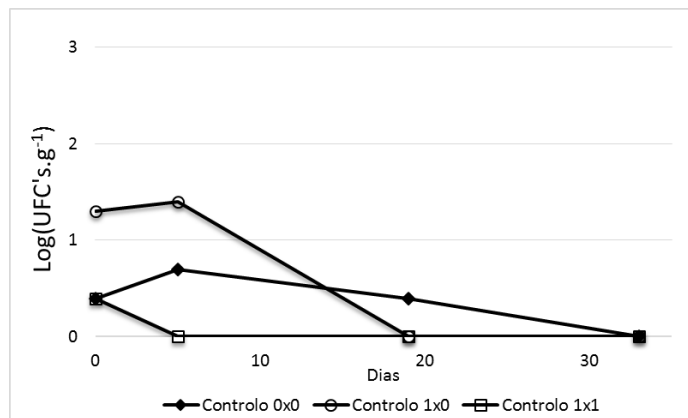


Figura 17: Evolução da carga de bolores e leveduras para os controlos de formulações em estudo

7.2.3 Dias de infusão

A alteração da aparência, firmeza e textura dos frutos após processamento em APH está descrita por vários autores. No decorrer deste estudo, pretendeu-se verificar se estas alterações variavam em função dos dias de infusão do produto antes do processamento. Este estudo foi importante devido a testes prévios realizados pela Frulact, onde após processamento os pedaços de morango apresentavam diferenças em termos de aparência e textura, não sendo os resultados consistentes entre si.

Na Figura 18, apresentam-se os resultados de firmeza para os binómios em estudo em função dos dias de infusão do produto (4/10 dias). É possível verificar que não existem diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) entre as 8 amostras, exceto aos 30 dias de armazenamento para o binómio 450,5' 1x0 com 4 dias de infusão. Os binómios 450,5' 0x0 e 550,5' 1x0 para os dois dias de infusão e ainda 450,5' 1x1 com 4 dias de infusão não apresentaram diferenças estatísticas significativas ao longo do tempo ($p > 0,05$). Nas restantes amostras verifica-se que aos 15 dias ocorre um pico em termos de firmeza sendo estatisticamente diferente de alguns dias de amostragem. Visualmente não se verificaram alterações de aparência e textura entre amostras e ao longo do tempo. Apesar destes resultados, sensorialmente os provadores referiram que as amostras com 10 dias de infusão tenderam a ser mais firmes do que as amostras com 4 dias de infusão, e que esta diferença tende a diminuir ao longo do tempo. Miguel-Pintado, Nogales, et al. (2013) referiram que a fruta perde firmeza durante refrigeração quando processada a 400 MPa.

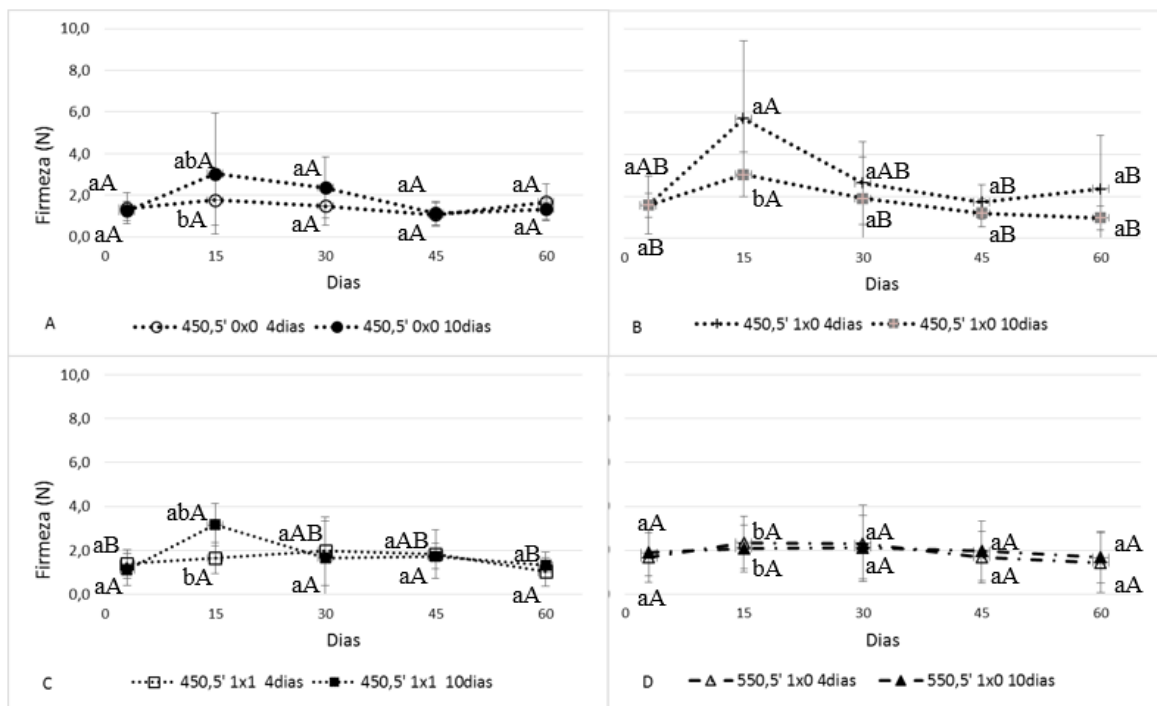


Figura 18: Efeito dos dias de infusão na firmeza dos pedaços de morango

Atendendo a estes resultados, e aos resultados visuais das amostras ao longo do tempo, é possível concluir que aquando da produção deste produto, os dias de infusão não alteram a aparência e textura dos pedaços de morango após processamento em APH. Em termos de firmeza, sensorialmente poderão existir diferenças, sendo que estas tendem a reduzir com os dias de armazenamento.

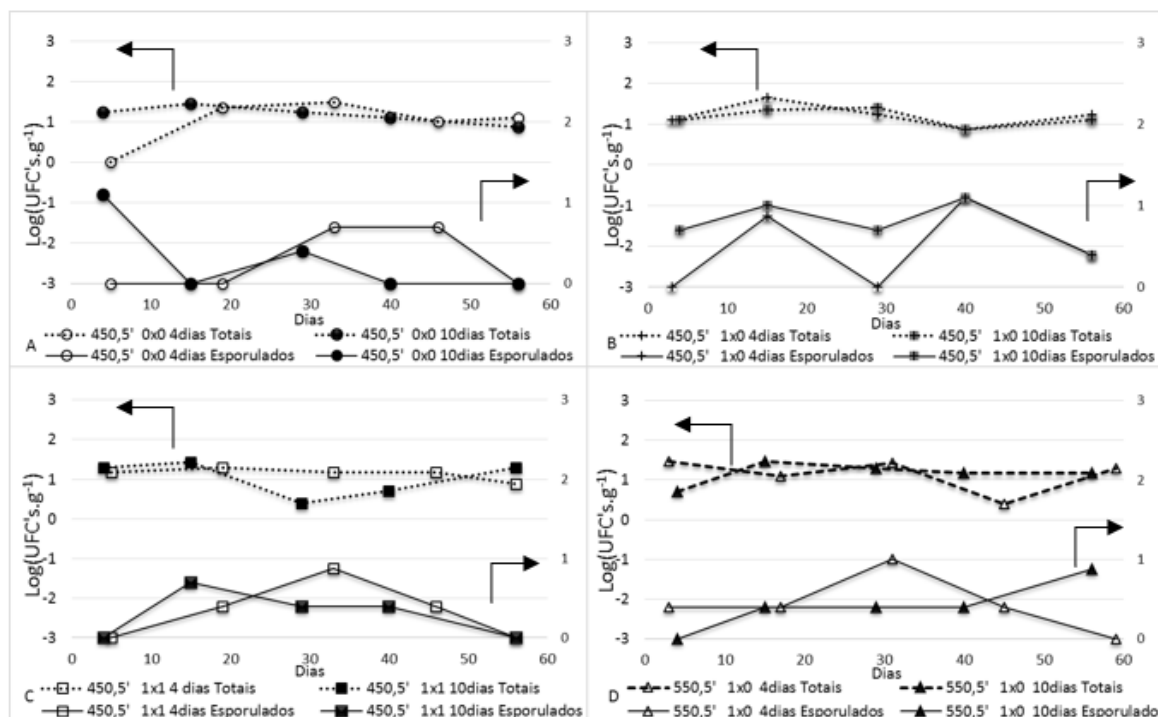


Figura 19: Efeito dos dias de infusão na carga mesófila total e aeróbica esporulada

Pela Figura 19 é possível verificar que a variação dos dias de infusão do produto não afetam a carga microbiológica relativa a mesófilos aeróbios totais e esporulados, nem aos restantes microrganismos apresentados no Anexo C. Pode-se então concluir que variações nos dias de infusão do produto não deverão produzir diferenças na carga microbiológica do produto final.

7.2.4. Cálcio

O efeito do cloreto de cálcio na firmeza de frutos após processamento em APH está descrito na literatura (Miguel-Pintado, Nogales, et al., 2013; Sila, Duvetter, et al., 2008). Na Figura 20, é possível verificar que em termos estatísticos não existem diferenças significativas entre formulações com cálcio e sem cálcio para processamentos a 450 e 600 MPa, exceto aos 15 dias após processamento em que a formulação com cálcio processada a 450 MPa é estatisticamente diferente das restantes amostras. A formulação com cálcio processada a 450 MPa apresenta ainda diferenças estatisticamente significativas ao longo do tempo, ao contrário das restantes 3. Ao contrário destes resultados, provas realizadas no decorrer do desenvolvimento deste produto levaram a diferentes conclusões. Provedores, principalmente para os primeiros 30 dias, indicaram que os pedaços de morango das formulações com cálcio eram mais firmes do que os pedaços de morango de formulação sem cálcio. Apesar disto, esta diferença de firmeza depende em parte do estado do pedaço de morango, ou seja, pedaços mais robustos e maiores tendem a ser mais firmes do que os restantes. Os provedores não referiram diferenças em termos de firmeza para processamento a 450 MPa ou 600 MPa.

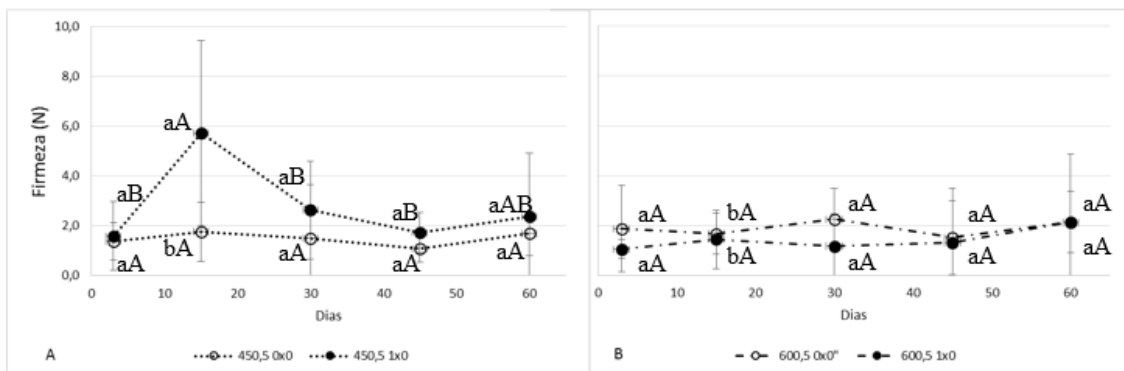


Figura 20: Efeito do Cálcio na firmeza dos pedaços de morango

Ainda no decorrer do estudo do cálcio, pretendeu-se verificar se a adição deste resultaria em alterações de carga microbiologia do produto, nomeadamente da carga esporulada.

Atendendo à Figura 21, verifica-se que a carga mesófila total e esporulada aeróbia não ultrapassa o primeiro log de unidades formadoras de colónias. A carga mesófila aeróbia esporulada do produto não foi eliminada para os binómios e formulações em estudo, o que está de acordo com a literatura (Knorr, Froehling, et al., 2011; Tewari & Juneja, 2007), sendo importante salientar que esta não evolui ao longo do tempo de armazenamento. O efeito protetor da carga esporulada pelo cálcio está também referenciado pela literatura sendo que este era esperado nos resultados deste estudo (Hauben, Bernaerts, et al., 1998; Sale, Gould, et al., 1970). No entanto, os resultados obtidos não demonstraram esse efeito protetor. A carga inicial dos pedaços de morango (Anexo F) poderá influenciar estes resultados, visto que a carga mesófila aeróbia esporulada permaneceu no limite de deteção. Contudo Sale, Gould, et al. (1970) verificaram que a inativação de esporos não depende da concentração inicial e Hauben, Bernaerts, et al. (1998) relataram uma dependência entre a baroproteção e a concentração de cálcio, sendo que a concentração de cloreto de cálcio no produto à base de pedaços de morango está abaixo do valor mínimo que os autores referem. A concentração de cálcio poderá ser então uma justificação para os resultados obtidos. Resultados para restantes microrganismos estão apresentados em Anexo C.

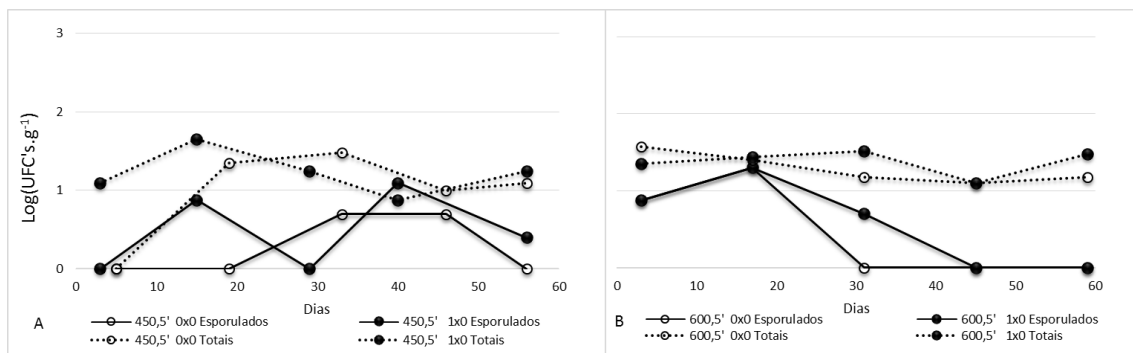


Figura 21: Efeito do Cálcio na carga mesófila total e aeróbica esporulada

Tendo em conta todos os resultados apresentados relativos ao produto à base de pedaços de morango, foi possível chegar ao melhor binómio de processamento. Todos os estudos foram unânimes, não existem diferenças significativas entre binómios. Sabendo que com o aumento da pressão de processamento o preço final do produto aumenta (Aurelio, Barry, et al., 2007), o melhor binómio de processamento do produto poderá ser a 450 MPa por 5 minutos.

7.2.5. Amostras sob congelação

Pretendeu-se verificar se a congelação das amostras (-17 ± 1 °C) por 30 e 120 dias afetava os parâmetros físico-químicos e a carga microbiológica do produto. Para isso foram selecionados 3 binómios de processamento e ainda os controlos das formulações em estudo.

A Figura 22 apresenta a comparação da carga microbiológica de mesófilos totais (A), bolores e leveduras (B) e mesófilos anaeróbios esporulados (C). A congelação permitiu uma redução da carga mesófila total em todas as amostras com exceção do binómio 450,5' 1x0 que aparenta uma manutenção da carga. É importante salientar que este binómio é o que apresenta uma menor carga mesófila total. Em relação a bolores e leveduras verifica-se um aumento de carga para o controlo 0x0 com congelação e tempo de congelação enquanto o controlo 1x0 aparenta uma ligeira redução. O controlo 1x1 e binómios de APH não apresentam carga de bolores e leveduras. Para mesófilos aeróbios esporulados o controlo 1x0 aparenta um aumento de carga. O binómio 450,5' 1x0 apresenta carga esporulada em congelação ao contrário da refrigeração, embora aos 45 e 60 dias de refrigeração a amostra apresente também carga, logo não se deverá retirar conclusões sobre o efeito da congelação. A congelação pode provocar danos ou até levar à morte de bactérias, sendo que estes efeitos podem variar com a temperatura de congelação e ainda com o tempo em que o produto é mantido sob congelação, sendo que quanto maior o tempo maior é a probabilidade de um aumento de danos e morte celular (Straka & Stokes, 1959). Estes efeitos foram também verificados para congelação após processamento em APH, onde os autores referem que o processamento a 300 MPa por 2 minutos à temperatura ambiente seguindo-se de 4 dias de congelação levam à descontaminação

de puré de morango de bactérias como a *Escherichia coli* e *Salmonella* (Huang, Ye, et al., 2013). É importante referir que estes resultados são para um teor de SST de 9 °Brix, enquanto o produto analisado possui um teor de SST de aproximadamente 46 °Brix, tabela 4.

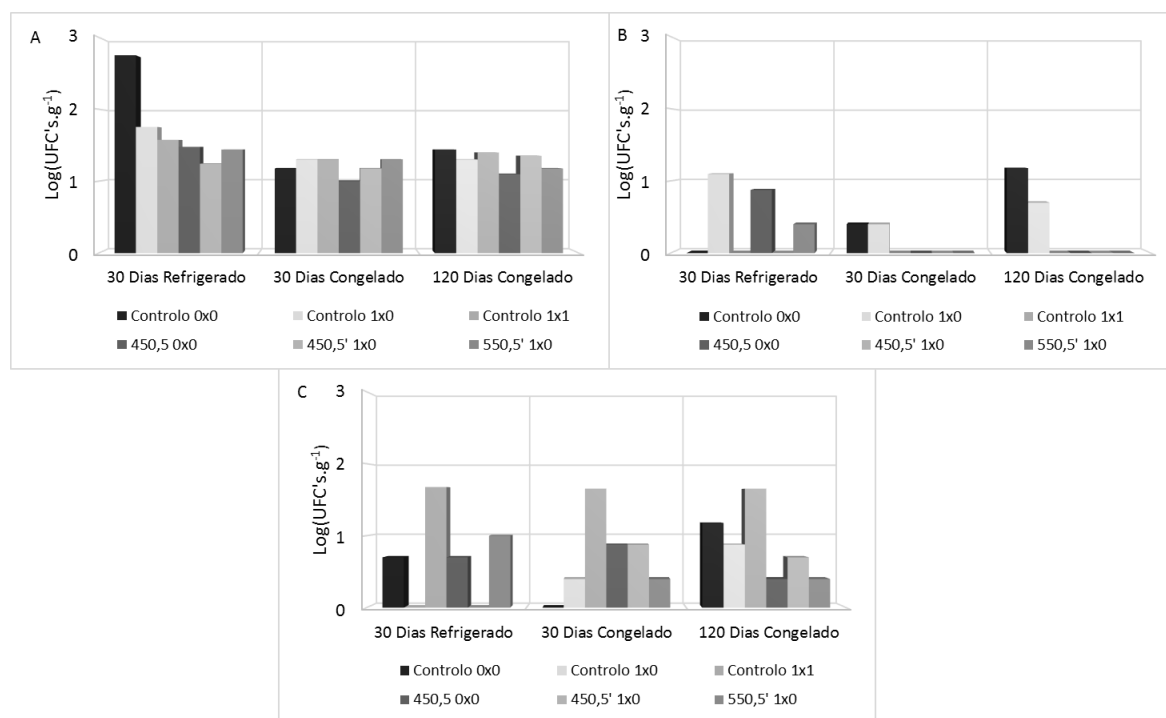


Figura 22: Efeito da congelação na carga mesófila total (A), de bolores e leveduras (B) e de mesófilos aeróbios esporulados (C)

A congelação das amostras teve um impacto na cor destas sendo que os parâmetros em que esse impacto foi mais relevante são as coordenadas a* (mais vermelho), b* (mais amarelo), a luminosidade (mais claro) e tonalidade. Os resultados apresentam-se em Anexo C.

O impacto da congelação na firmeza dos pedaços de morango pode ser verificado na Figura 23. Apesar de verificar-se uma redução do valor médio de firmeza para o controlo 0x0, controlo 1x0 e para os binómios 450,5' 1x0 e 550,5' 1x0, estatisticamente não existem diferenças entre todas as amostras para cada data de amostragem nem ao longo do tempo ($p > 0,05$). Sensorialmente também não foi verificada nenhuma diferença na firmeza dos pedaços. A congelação das amostras por 120 dias levou a que o produto adquirisse uma aparência gelatinosa.

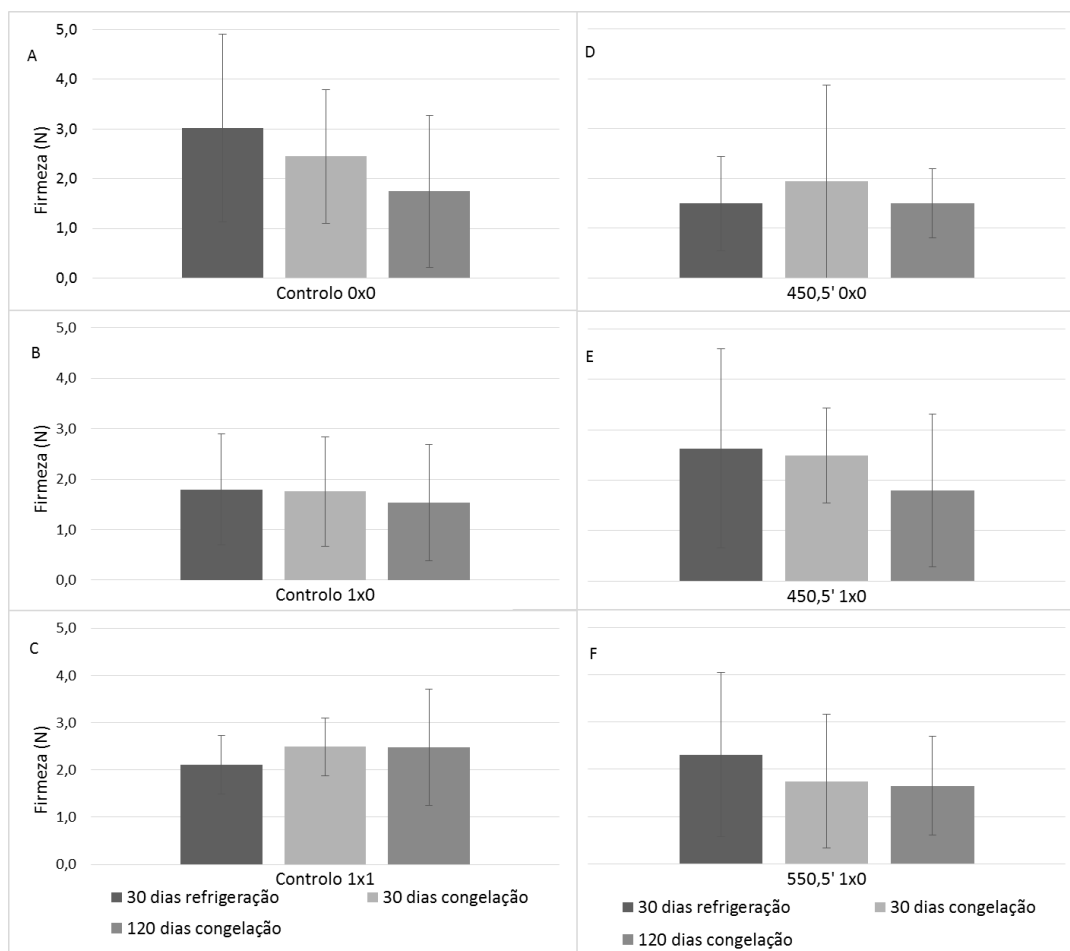


Figura 23: Efeito da congelação na firmeza do produto à base de pedaços de morango

7.2.6. Validação de resultados obtidos

Por forma a se verificarem os resultados obtidos foi realizado um segundo ensaio. O produto foi processado a 450MPa por 5 minutos (melhor binómio para processamento tendo em conta o primeiro ensaio) com as formulações que contêm cálcio. A formulação com cálcio tem mais interesse para comercialização por parte da Frulact.

Tendo em conta o comportamento aparentemente constante das amostras processadas em APH a nível microbiológico ao longo do tempo, o segundo ensaio decorreu durante 80 dias (mais 20 dias do que o primeiro ensaio), sendo que os controlos foram analisados durante 50 dias após produção. Assim sendo, pretendeu-se verificar se a extensão do prazo de validade do produto processado por APH poderia ser estendido ainda por mais tempo. Os resultados microbiológicos do segundo ensaio estão apresentados na Figura 24. Verifica-se que existe um aumento da carga mesófila total do controlo 1x0 ao longo do tempo, sendo que aos 50 dias existe uma ligeira diminuição desta, sendo que para a amostra processada em APH observa-se uma manutenção da

carga ao longo do tempo. A carga de bolores e leveduras também aumentou com o tempo para o controle 1x0 sendo que o binômio de processamento em APH de 450,5' para a mesma formulação permanece no limite de detecção. Relativamente à carga mesófila anaeróbia dos controles das duas formulações esta tende a ser superior à carga do respectivo binômio de processamento, com exceção do tempo zero para a formulação 1x1.

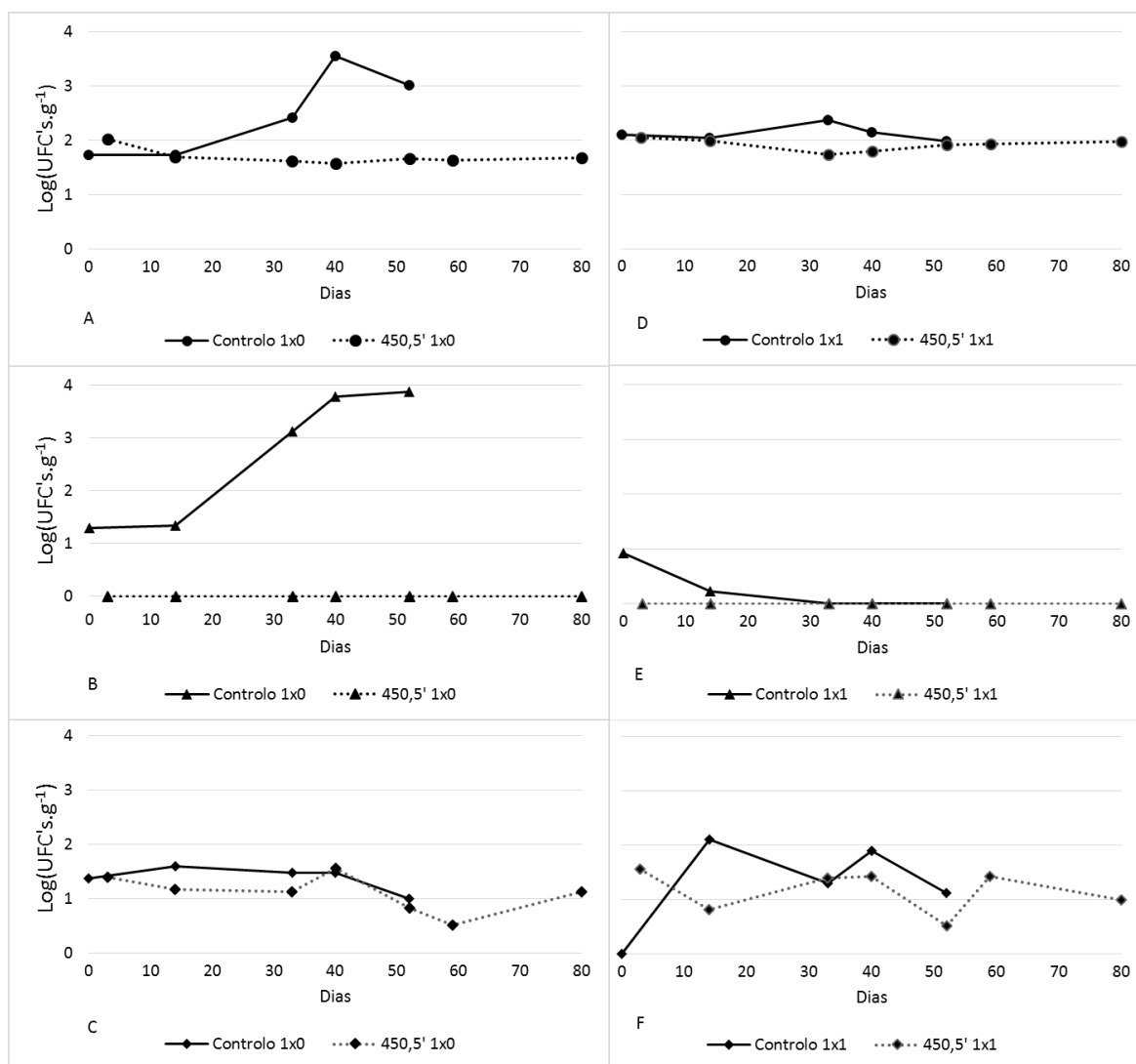


Figura 24: Evolução da carga mesófila total (A,D) de bolores e leveduras (B,E) e de mesófilos anaeróbios (C,F) das formulações e binômios em estudo

Os resultados relativos à firmeza dos pedaços de morango estão apresentados na Figura 25. Relativamente à formulação 1x0 processada em APH parece existir uma tendência de aumento da firmeza com o tempo de armazenamento. Em relação às restantes amostras não existem diferenças estatisticamente diferentes ($p > 0,05$) ao longo do tempo, nem entre amostras para cada data de amostragem. Estes resultados estão em linha com os resultados do 1º ensaio com exceção do aumento de firmeza da amostra 450,5' 1x0.

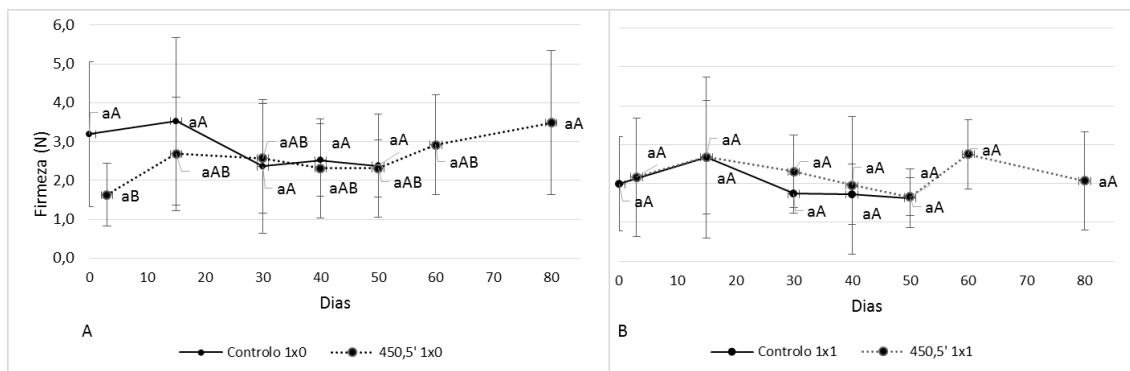


Figura 25: Evolução da firmeza dos pedaços de morango para as formulações e binómios em estudo

Verificaram-se diferenças de cor entre tratamentos no decorrer deste segundo ensaio. A formulação 1x1 adquiriu um tom mais vermelho e mais claro do que a formulação 1x0, Figura 26. Uma possível razão para esta diferença poderá recair no comportamento da calda ao adicionar o ácido cítrico e o sorbato de potássio, sendo que esta adquiriu um tom esbranquiçado. Este comportamento decorreu provavelmente pelo facto do ácido cítrico ainda não estar bem dissolvido na calda aquando da adição do sorbato de potássio. Este foi o único ponto que não correu como esperado no decorrer da produção da calda. Este tom esbranquiçado foi desvanecendo ao longo do processo de infusão.

Pela Tabela 7 é possível verificar que o controlo 1x1 é mais vermelho e amarelo (a^* e b^*), mais claro (L^*) e possui uma maior intensidade da cor (C^*) sendo estatisticamente diferente das restantes amostras ($p < 0,05$). Estes resultados vão de encontro à perceção visual das amostras. É possível ainda verificar que dentro de cada formulação, o processamento leva a diferenças estatisticamente diferentes, com exceção do parâmetro L^* para a formulação 1x0. Pela tabela 6, é possível verificar a variação de pH em função da formulação analisada, tal como referido para o 1º ensaio. Apesar de existirem diferenças estatísticas em relação aos SST, estes encontram-se dentro das especificações do produto.

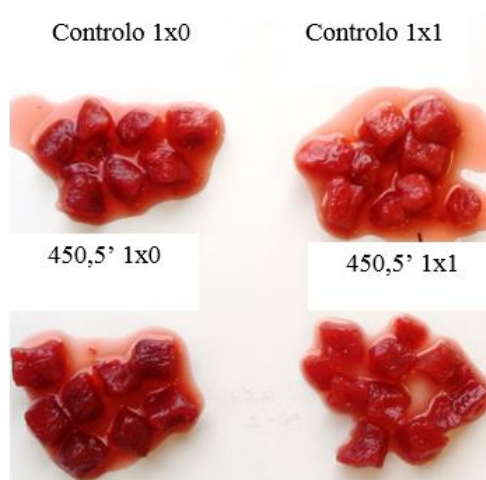


Figura 26: Aparência dos controlos das formulações e respetivos binómios de processamento

Tabela 6: Valores médios e respetivos intervalos de confiança (I.C.) a 95% para pH, SST e atividade da água das amostras em estudo

Amostra	pH (média ± I.C.)	SST (°Brix) (média ± I.C.)	aw (média ± I.C.)
Controlo 1x0	2,92 ± 0,02 ^b	44,9 ± 0,0 ^c	0,901 ± 0,006 ^a
Controlo 1x1	3,12 ± 0,02 ^a	45,3 ± 0,1 ^b	0,894 ± 0,005 ^{ab}
450,5' 1x0	2,92 ± 0,01 ^b	45,0 ± 0,1 ^c	0,893 ± 0,004 ^{ab}
450,5' 1x1	3,11 ± 0,01 ^a	45,4 ± 0,1 ^b	0,888 ± 0,004 ^{bc}
Xarope Frio 1x1	3,10 ± 0,02 ^a	47,5 ± 0,0 ^a	0,882 ± 0,007 ^c

Tabela 7: Valores médios e respetivos intervalos de confiança (I.C.) a 95% para os parâmetros de cor das amostras em estudo

Amostra	L* (média ± I.C.)	a* (média ± I.C.)	b* (média ± I.C.)	c* (média ± I.C.)	h° (média ± I.C.)
Controlo 1x0	16,86 ± 0,80 ^c	26,17 ± 0,91 ^b	4,74 ± 0,87 ^b	26,66 ± 1,0 ^b	9,90 ± 1,69 ^b
Controlo 1x1	22,58 ± 1,33 ^a	29,49 ± 1,11 ^a	10,80 ± 1,20 ^a	31,47 ± 1,43 ^a	19,72 ± 1,51 ^a
450,5' 1x0	16,97 ± 0,83 ^{bc}	20,98 ± 1,09 ^c	2,54 ± 0,66 ^c	21,20 ± 1,15 ^c	6,34 ± 1,43 ^c
450,5' 1x1	18,62 ± 0,25 ^b	22,34 ± 0,68 ^c	4,37 ± 0,52 ^b	22,82 ± 0,74 ^c	10,79 ± 1,12 ^b
Xarope Frio 1x1	16,87 ± 0,46 ^c	20,88 ± 0,75 ^c	2,35 ± 0,44 ^c	21,03 ± 0,79 ^c	6,25 ± 1,08 ^c

Apesar dos resultados obtidos em relação à microbiologia no primeiro ensaio, é importante para a comercialização do produto, de que este esteja acondicionado da melhor maneira possível para evitar aumento não espectável da carga microbiológica ao longo do tempo. Nesse sentido foram transferidas parte das amostras antes do processamento e após processamento para tubos de Falcon. A presença de uma maior quantidade de ar dentro dos tubos de Falcon permitiu retirar conclusões sobre o tipo de embalagem e acondicionamento a que o produto deve estar sujeito, Figura 27. Para o controlo 1x0 é possível verificar um aumento da carga mesófila total e de bolores e leveduras. Estes aumentos não foram verificados para o controlo 1x1. A carga de mesófilos anaeróbios tende a diminuir com um armazenamento com maior presença de ar, provavelmente devido às condições adversas ao seu crescimento. Esta diminuição de mesófilos anaeróbios foi verificada para as 3 amostras. A amostra processada por APH aparenta uma manutenção da carga em função das condições do seu armazenamento para mesófilos totais e bolores e leveduras.

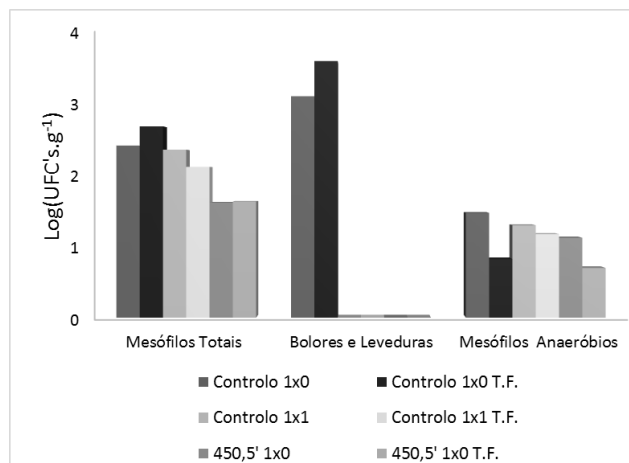


Figura 27: Comparação de dois tipos de armazenamento (típico e em tubos de Falcon, T.F.) das amostras em estudo

7.2.7. Infusão em APH

Em contraste com o processo de infusão deste produto à pressão atmosférica, foi realizado um processo de infusão por APH. Para tal foi necessário aquecer a calda até aos 33 °C, devido à sua viscosidade, e adicioná-la aos pedaços de morango congelados. As amostras foram submetidas a 450 MPa durante 5 minutos. A implementação industrial deste processo teria como obstáculo a dosificação da calda fria em cada embalagem devido à sua viscosidade. Os resultados da carga microbológica e de firmeza do processo de infusão por APH estão apresentados nas Figuras 28 e 29 respetivamente.

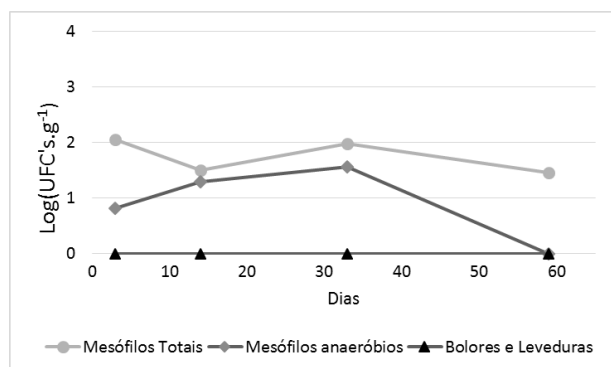


Figura 28: Evolução da carga de mesófilos totais, anaeróbios e de bolores e leveduras do produto com infusão em APH

A carga de bolores e leveduras permaneceu no limite de deteção, o que era espectável devido ao processamento em APH e à adição de sorbato de potássio. A carga de mesófilos totais permanece abaixo de 2 log de unidades formadoras de colónias tal como o produto com infusão à pressão atmosférica sendo depois processado com o mesmo binómio em APH. Mesófilos anaeróbios aparentam ter o mesmo comportamento do que o produto que sofreu infusão à pressão atmosférica.

Em relação à firmeza dos pedaços de morango, os resultados aparentam um aumento de firmeza aos 15 dias após processamento, Figura 29.

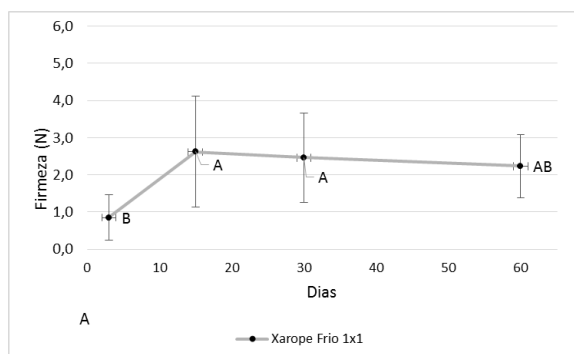


Figura 29: Evolução da firmeza do produto com infusão em APH

É importante referir que após o processamento em APH foi aberta uma amostra de modo a ser possível verificar se o processo de infusão por pressão permitia um equilíbrio de SST entre os pedaços e a calda de modo instantâneo. Foi possível verificar que o processamento não levou a uma infusão de calda nos morango de forma a que o produto atingisse o equilíbrio de SST, visto que restava ainda um pouco de calda mais espessa na embalagem da amostra. Após os 3 dias, o processo de infusão aparentava já se encontrar em equilíbrio em SST, sendo que não apresentava calda por dissolver na embalagem. Apesar disso os pedaços de morango diminuíram de tamanho, apresentando uma perda de turgescência em relação à amostra após processamento em APH, Figura 30. A definição dos pedaços foi prejudicada em comparação com os controlos das formulações e processamento em APH, o que poderá dever-se aos vacuolos de ar presentes no morango aquando do processamento que levaram a danos nas paredes celulares quando pressurizados (Marigheto, Vial, et al., 2004).



Figura 30: Aparência do produto com infusão em APH aos 15 dias de armazenamento

Conclusão

A bebida de vinagre de cereja processada em APH manteve as suas características visuais por mais tempo em comparação com a bebida processada termicamente para a temperatura ambiente. Verificou-se que a temperatura de armazenamento possui influência na velocidade de degradação das características sensoriais sendo que o produto deverá ser mantido em refrigeração para uma extensão da vida útil. Seria necessário mais tempo de análise para se retirarem conclusões em relação às amostras refrigeradas apesar de que, a amostra processada por APH aparenta possuir, aos 7 meses de armazenamento, uma cor mais próxima à do pré-mix (após ingredientação e sem tratamento térmico ou processamento em APH), quando comparada com a amostra convencional. O impacto da adição de metabissulfito de sódio na degradação da cor, permitiu concluir que parte desta degradação se deve a reações enzimáticas que poderão promover a degradação de antocianinas.

Em relação ao produto à base de pedaços de morango, a adição de cloreto de cálcio e o aumento dos dias de infusão levaram a que existissem diferenças sensoriais em termos de firmeza. A carga microbiológica parece não variar com a adição de cloreto de cálcio, nem com o binómio de processamento, sendo que o melhor binómio de processamento para este produto foi 450 MPa por 5 minutos. Ao longo do tempo não se verificam variações significativas na carga microbiológica exceto para as amostras não processadas em APH. O congelamento do produto processado por APH não teve impacto na carga microbiológica, apesar de se verificarem alterações de cor e aparência para as amostras congeladas por 120 dias. A infusão dos pedaços sob pressão leva a alteração da aparência dos pedaços de morango.

O processamento em APH permitiu prolongar a vida útil dos dois produtos em análise.

8. Referências Bibliográficas

- Alpas, H., Kalchayanand, N., Bozoglu, F., & Ray, B. (2000). Interactions of high hydrostatic pressure, pressurization temperature and pH on death and injury of pressure-resistant and pressure-sensitive strains of foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, 60(1) (p. 33-42).
- Aurelio, L.-M., Barry, G. S., Gustavo, V. B.-C., & Enrique, P. (2007). High-Pressure Treatment in Food Preservation. In *Handbook of Food Preservation*, (p. 815-853). United States: CRC Press.
- Awuah, G., Ramaswamy, H., & Economides, A. (2007). Thermal processing and quality: Principles and overview. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 46(6) (p. 584-602).
- Azodanlou, R., Darbellay, C., Luisier, J.-L., Villettaz, J.-C., & Amadò, R. (2003). Quality assessment of strawberries (*Fragaria* species). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3) (p. 715-721).
- Balasubramanian, S., & Balasubramaniam, V. (2003). Compression heating influence of pressure transmitting fluids on bacteria inactivation during high pressure processing. *Food Research International*, 36(7) (p. 661-668).
- Basu, A., Nguyen, A., Betts, N. M., & Lyons, T. J. (2014). Strawberry as a functional food: An evidence-based review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(6) (p. 790-806).
- Beales, N. (2004). Adaptation of microorganisms to cold temperatures, weak acid preservatives, low pH, and osmotic stress: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3(1) (p. 1-20).
- Bermúdez-Aguirre, D., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2011). An update on high hydrostatic pressure, from the laboratory to industrial applications. *Food Engineering Reviews*, 3(1) (p. 44-61).
- Bodelón, O. G., Avizcuri, J.-M., Fernández-Zurbano, P., Dizy, M., & Préstamo, G. (2013). Pressurization and cold storage of strawberry purée: Colour, anthocyanins, ascorbic acid and pectin methylesterase. *LWT-Food Science and Technology*, 52(2) (p. 123-130).
- Botelho, R. V., Souza, N., & Peres, N. A. R. (2002). Qualidade pós-colheita de goiabas' Branca de Kumagai', tratadas com cloreto de cálcio. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal*, 24(1) (p. 063-067).
- Brett, C. T., & Waldron, K. (1996). *Physiology and Biochemistry of Plant Cell Walls* (2 ed.). Chambridge: Springer.
- Brummell, D. A., & Harpster, M. H. (2001). Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. In *Plant Cell Walls*, (p. 311-340): Springer.
- Budak, N. H., Aykin, E., Seydim, A. C., Greene, A. K., & Guzel-Seydim, Z. B. (2014). Functional properties of vinegar. *Journal of Food Science*, 79(5) (p. R757-R764).
- Cano, M. P., Hernandez, A., & Ancos, B. d. (1997). High pressure and temperature effects on enzyme inactivation in strawberry and orange products. *Journal of Food Science*, 62(1) (p. 85-88).
- Cardello, A. V., Schutz, H. G., & Leshner, L. L. (2007). Consumer perceptions of foods processed by innovative and emerging technologies: A conjoint analytic study. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(1) (p. 73-83).
- Carvalho, A. V., & Lima, L. d. O. (2002). Qualidade de kiwis minimamente processados e submetidos a tratamento com ácido ascórbico, ácido cítrico e cloreto de cálcio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37(5) (p. 679-685).
- Chakraborty, S., Kaushik, N., Rao, P. S., & Mishra, H. (2014). High-Pressure Inactivation of Enzymes: A Review on Its Recent Applications on Fruit Purees and Juices. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4) (p. 578-596).
- Chin, L.-H., Ali, Z. M., & Lazan, H. (1999). Cell wall modifications, degrading enzymes and softening of carambola fruit during ripening. *Journal of Experimental Botany*, 50(335) (p. 767-775).

- Dalai, S. R., & Sahu, J. K. (2010). High Hydrostatic Pressure (HPP) in Food Processing: Design Aspects and Applications. *Assam University Journal of Science and Technology*, 6(2) (p. 70-87).
- Dogan, C., & Erkmen, O. (2004). High pressure inactivation kinetics of *Listeria monocytogenes* inactivation in broth, milk, and peach and orange juices. *Journal of Food Engineering*, 62(1) (p. 47-52).
- Erkmen, O. (2009). Mathematical modeling of *Salmonella typhimurium* inactivation under high hydrostatic pressure at different temperatures. *Food and Bioprocess Processing*, 87(1) (p. 68-73).
- Eshtiaghi, M. N., & Knorr, D. (1993). Potato Cubes Response to Water Blanching and High Hydrostatic Pressure. *Journal of Food Science*, 58(6) (p. 1371-1374).
- Farkas, D. F., & Hoover, D. G. (2000). High pressure processing. *Journal of Food Science*, 65(s8) (p. 47-64).
- Favero, D. M., Ribeiro, C. d. S. G., & Aquino, A. (2011). Sulfitos: importância na indústria alimentícia e seus possíveis malefícios à população. *Segurança Alimentar e Nutricional*, 18(1) (p. 11-20).
- FDA. (2014). Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies: high pressure processing.
- Fellows, P. (2000). Processing using electric fields, high hydrostatic pressure, light or ultrasound irradiation. *Food Processing Technology: Principles and Practice*, 2 (p. 210-227).
- Fraeye, I., Knockaert, G., Van Buggenhout, S., Duvetter, T., Hendrickx, M., & Van Loey, A. (2010). Enzyme infusion prior to thermal/high pressure processing of strawberries: mechanistic insight into firmness evolution. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(1) (p. 23-31).
- Frank. (2013a). Product Launch: Naked Juice Power Garden Range. [Consult. 12 de Dezembro, 2014]. Disponível em <http://trndmonitor.com/product-launch-naked-juice-power-garden-range/>.
- Frank. (2013b). Product Spotlight: Suja Elements Berryoxidant Cold Pressed Smoothie. [Consult. 12 de Dezembro, 2014]. Disponível em <http://trndmonitor.com/product-spotlight-suja-elements-berryoxidant-cold-pressed-smoothie/>.
- Frank. (2014). Drink Review: Cold Press Pineapple, Coconut & Banana Smoothie. [Consult. 12 de Dezembro, 2014]. Disponível em <http://trndmonitor.com/drink-review-cold-press-pineapple-coconut-banana-smoothie/>.
- Garcia-Palazon, A., Suthanthangjai, W., Kajda, P., & Zabetakis, I. (2004). The effects of high hydrostatic pressure on β -glucosidase, peroxidase and polyphenoloxidase in red raspberry (*Rubus idaeus*) and strawberry (*Fragaria x ananassa*). *Food Chemistry*, 88(1) (p. 7-10).
- Giovannoni, J. J., DellaPenna, D., Bennett, A. B., & Fischer, R. L. (1989). Expression of a chimeric polygalacturonase gene in transgenic rin (ripening inhibitor) tomato fruit results in polyuronide degradation but not fruit softening. *The Plant Cell Online*, 1(1) (p. 53-63).
- Gonçalves, B. (2006). *Ecofisiologia da cerejeira (Prunus avium L.), composição fenólica e actividade antioxidante dos frutos*. Universidade de Trás-os -Montes e Alto Douro, Vila Real.
- Gross, K. C., & Wallner, S. J. (1979). Degradation of cell wall polysaccharides during tomato fruit ripening. *Plant Physiology*, 63(1) (p. 117-120).
- Guerrero-Beltran, J. A., Barbosa-Canovas, G. V., Lopez-Malo, A., Palou, E., Welti-Chanes, J., & Bermudez, D. (2004). Fundamentals and Applications of High Pressure Processing to Foods. In *Novel Food Processing Technologies*, (p. 157-181): CRC Press.
- Hannum, S. M. (2004). Potential impact of strawberries on human health: a review of the science. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(1) (p. 1-17).
- Hashizume, C., Kimura, K., & Hayashi, R. (1995). Kinetic analysis of yeast inactivation by high pressure treatment at low temperatures. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 59(8) (p. 1455-1458).

- Hauben, K., Bernaerts, K., & Michiels, C. (1998). Protective effect of calcium on inactivation of *Escherichia coli* by high hydrostatic pressure. *Journal of Applied Microbiology*, 85(4) (p. 678-684).
- Hendrickx, M., Ludikhuyze, L., Van den Broeck, I., & Weemaes, C. (1998). Effects of high pressure on enzymes related to food quality. *Trends in Food Science & Technology*, 9(5) (p. 197-203).
- Hennessy, M. (2014). Suavva taps 'unexploited' part of the cacao fruit: the pulp. [Consult. 6 de Maio, 2015]. Disponível em <http://www.foodnavigator-usa.com/Manufacturers/Suavva-taps-unexploited-part-of-the-cacao-fruit-the-pulp>.
- Hiperbaric. Dairy. [Consult. 12 de Dezembro, 2014]. Disponível em <http://www.hiperbaric.com/en/dairy>.
- Hiremath, N. D., & Ramaswamy, H. S. (2012). High-pressure destruction kinetics of spoilage and pathogenic microorganisms in mango juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 36(2) (p. 113-125).
- Hogan, E., Kelly, A. L., & Sun, D.-W. (2005). 1 - High Pressure Processing of Foods: An Overview. In D.-W. Sun (Ed.), *Emerging Technologies for Food Processing*, (p. 3-32). London: Academic Press.
- Hsu, K.-C. (2008). Evaluation of processing qualities of tomato juice induced by thermal and pressure processing. *LWT-Food Science and Technology*, 41(3) (p. 450-459).
- Huang, Y., Ye, M., & Chen, H. (2013). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. in strawberry puree by high hydrostatic pressure with/without subsequent frozen storage. *International Journal of Food Microbiology*, 160(3) (p. 337-343).
- Hui, Y. H. (2006). *Handbook of food science, technology, and engineering* (Vol. 149): CRC press.
- INSA. (2010a). Detalhe Alimento. [Consult. 30 Junho, 2015]. Disponível em <http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/AlimentNutricao/AplicacoesOnline/TabelaAlimentos/PesquisaOnline/Paginas/DetalheAlimento.aspx?ID=IS676>.
- INSA. (2010b). Detalhe Alimento. [Consult. 30 Junho, 2015]. Disponível em <http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/AlimentNutricao/AplicacoesOnline/TabelaAlimentos/PesquisaOnline/Paginas/DetalheAlimento.aspx?ID=IS314>.
- Ioannou, I., Hafsa, I., Hamdi, S., Charbonnel, C., & Ghoul, M. (2012). Review of the effects of food processing and formulation on flavonol and anthocyanin behaviour. *Journal of Food Engineering*, 111(2) (p. 208-217).
- IPQ. (1999). NP EN 12147, Norma Portuguesa para determinação de acidez titulável em sumos de frutos e de produtos hortícolas. In IPQ (Ed.). Lisboa.
- IPQ. (2002). NP 4405:2002, Microbiologia Alimentar. Regras gerais para a contagem de microrganismos. Contagens de colónias a 30°C. In IPQ (Ed.). Caparica.
- John, M. A., & Dey, P. M. (1986). Postharvest changes in fruit cell wall. *Advances in Food Research (USA)*, 30 (p. 139-193).
- Knorr, D., Froehling, A., Jaeger, H., Reineke, K., Schlueter, O., & Schoessler, K. (2011). Emerging technologies in food processing. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2 (p. 203-235).
- Kouniaki, S., Kajda, P., & Zabetakis, I. (2004). The effect of high hydrostatic pressure on anthocyanins and ascorbic acid in blackcurrants (*Ribes nigrum*). *Flavour and fragrance journal*, 19(4) (p. 281-286).
- Liavoga, A., & Matella, N. J. (2012). Enzymes in quality and processing of tropical and subtropical fruits. In *Tropical and Subtropical Fruits: Postharvest Physiology, Processing and Packaging*, (p. 35-54). United States: Wiley-Blackwell.
- Lieber, C. (2014). The Freshness War That's Dividing the Juice Industry. [Consult. 6 de Maio, 2014]. Disponível em <http://www.racked.com/2014/12/19/7564091/hpp-juice-cleanse-whole-foods-blueprint-juice-press-organic-avenue>.
- Lucena, E. M. d., Assis, J. S. d., Alves, R. E., & Filho, J. E. (2011). Atividade das enzimas α -e β -galactosidases de mangas 'Tommy Atkins' durante o desenvolvimento. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, 13 (p. 65-74).

- MacDougall, D. (2002). *Colour in food: improving quality* ((p. 33-66). Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- Malis-Arad, S., Didi, S., Mizrahi, Y., & Kopeliovitch, E. (1983). Pectic substances: changes in soft and firm tomato cultivars and in non-ripening mutants. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* (p. 111-116).
- Margosch, D., Ehrmann, M. A., Buckow, R., Heinz, V., Vogel, R. F., & Gänzle, M. G. (2006). High-pressure-mediated survival of *Clostridium botulinum* and *Bacillus amyloliquefaciens* endospores at high temperature. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(5) (p. 3476-3481).
- Marigheto, N., Vial, A., Wright, K., & Hills, B. (2004). A combined NMR and microstructural study of the effect of high-pressure processing on strawberries. *Applied Magnetic Resonance*, 26(4) (p. 521-531).
- MarketsandMarkets. (2013a). HPP (High Pressure Processing) Market by Equipment Type (Orientation, Vessel Size), Application (Meat, Seafood, Beverage, Fruit & Vegetable), Product Type (Meat & Poultry, Seafood, Juice, Ready Meal, Fruit & Vegetable) & Geography - Forecast to 2018. [Consult. 12 de Dezembro, 2014]. Disponível em <http://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/hpp-market-1274.html>.
- MarketsandMarkets. (2013b). HPP Equipment Market worth \$600 Million and HPP Products Market worth \$12 Billion by 2018. [Consult. 12 de Dezembro, 2014]. Disponível em <http://www.marketsandmarkets.com/PressReleases/hpp.asp>.
- Menezes, C. C., Borges, S. V., Cirillo, M., Ferrua, F. Q., Oliveira, L. F., & Mesquita, K. S. (2009). Caracterização física e físico-química de diferentes formulações de doce de goiaba (*Psidium guajava* L.) da cultivar Pedro Sato. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29(3) (p. 618-625).
- Miguel-Pintado, C., Nogales, S., Fernández-León, A. M., Delgado-Adámez, J., Hernández, T., Lozano, M., Cañada-Cañada, F., & Ramírez, R. (2013). Effect of hydrostatic high pressure processing on nectarine halves pretreated with ascorbic acid and calcium during refrigerated storage. *LWT-Food Science and Technology*, 54(1) (p. 278-284).
- Mozhaev, V. V., Heremans, K., Frank, J., Masson, P., & Balny, C. (1996). High pressure effects on protein structure and function. *Proteins-Structure Function and Genetics*, 24(1) (p. 81-91).
- Nunan, K. J., Sims, I. M., Bacic, A., Robinson, S. P., & Fincher, G. B. (1998). Changes in cell wall composition during ripening of grape berries. *Plant Physiology*, 118(3) (p. 783-792).
- Oey, I., Lille, M., Van Loey, A., & Hendrickx, M. (2008). Effect of high-pressure processing on colour, texture and flavour of fruit-and vegetable-based food products: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 19(6) (p. 320-328).
- Oey, I., Van der Plancken, I., Van Loey, A., & Hendrickx, M. (2008). Does high pressure processing influence nutritional aspects of plant based food systems? *Trends in Food Science & Technology*, 19(6) (p. 300-308).
- OMAIAA. (2011). A Produção e Comercialização do Morango em Portugal. [Consult. 17 de Junho, 2015]. Disponível em http://www.observatorioagricola.pt/item.asp?id_item=104.
- Oxen, P., & Knorr, D. (1993). Baroprotective effects of high solute concentrations against inactivation of *Rhodotorula rubra*. *LWT-Food Science and Technology*, 26(3) (p. 220-223).
- OzScientific. (2014). Harvest Soul Chewable Juices Gain GA Department of Agriculture Approval Allowing for Immediate Production. [Consult. 6 de Maio, 2015]. Disponível em <http://functionalfoods.biz/?p=759#more-759>.
- Palou, E., Lopez-Malo, A., Barbosa-Canovas, G., Welti-Chanes, J., Davidson, P., & Swanson, B. (1998). High hydrostatic pressure come-up time and yeast viability. *Journal of Food Protection*, 61(12) (p. 1657-1660).
- Palou, E., Lopez-Malo, A., Barbosa-Canovas, G., Welti-Chanes, J., & Swanson, B. (1997). Effect of water activity on high hydrostatic pressure inhibition of *Zygosaccharomyces bailii*. *Letters in Applied Microbiology*, 24(5) (p. 417-420).

- Pandya, Y., Jewett, F. F., & Hoover, D. G. (1995). Concurrent effects of high hydrostatic pressure, acidity and heat on the destruction and injury of yeasts. *Journal of Food Protection*®, 58(3) (p. 301-304).
- Patras, A., Brunton, N. P., Da Pieve, S., & Butler, F. (2009). Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purées. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(3) (p. 308-313).
- Payasi, A., & Sanwal, G. (2003). Pectate lyase activity during ripening of banana fruit. *Phytochemistry*, 63(3) (p. 243-248).
- Pizzocaro, F., Torreggiani, D., & Gilardi, G. (1993). Inhibition of apple polyphenoloxidase (PPO) by ascorbic acid, citric acid and sodium chloride. *Journal of Food Processing and Preservation*, 17(1) (p. 21-30).
- Poovaiah, B. (1986). Role of calcium in prolonging storage life of fruits and vegetables. *Food Technology*, 40(5) (p. 86-89).
- Ramaswamy, H. S., Zaman, S. U., & Smith, J. P. (2008). High pressure destruction kinetics of *Escherichia coli* (O157: H7) and *Listeria monocytogenes* (Scott A) in a fish slurry. *Journal of Food Engineering*, 87(1) (p. 99-106).
- Rastogi, N., Raghavarao, K., Balasubramaniam, V., Niranjan, K., & Knorr, D. (2007). Opportunities and challenges in high pressure processing of foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(1) (p. 69-112).
- Reddy, M. B., & Love, M. (1999). The impact of food processing on the nutritional quality of vitamins and minerals. In *Impact of Processing on Food Safety*, (p. 99-100). United States: Springer.
- Roberts, C., & Hoover, D. (1996). Sensitivity of *Bacillus coagulans* spores to combinations of high hydrostatic pressure, heat, acidity and nisin. *Journal of Applied Bacteriology*, 81(4) (p. 363-368).
- Sale, A., Gould, G., & Hamilton, W. (1970). Inactivation of bacterial spores by hydrostatic pressure. *Journal of General Microbiology*, 60(3) (p. 323-334).
- Sancho, F., Lambert, Y., Demazeau, G., Largeteau, A., Bouvier, J.-M., & Narbonne, J.-F. (1999). Effect of ultra-high hydrostatic pressure on hydrosoluble vitamins. *Journal of Food Engineering*, 39(3) (p. 247-253).
- Santos, M., Correia, C., Cunha, M. C., Saraiva, M., & Novais, M. (2005). Valores guia para a avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração. [Consult. 17 de Junho, 2015]. Disponível em http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/Publicacoes/Outros/Documents/AlimentacaoNutricao/Valores_Guia_Qualid_Microb_Alim.pdf.
- Sila, D. N., Duvetter, T., De Roeck, A., Verlent, I., Smout, C., Moates, G. K., Hills, B. P., Waldron, K. K., Hendrickx, M., & Van Loey, A. (2008). Texture changes of processed fruits and vegetables: potential use of high-pressure processing. *Trends in Food Science & Technology*, 19(6) (p. 309-319).
- Silva, C. (2004). *Qualidade e conservação do morango tratado em pós-colheita com cloreto de cálcio e do armazenamento em atmosfera modificada ativa*. 2004. 96p. Tese de Doutorado em Agronomia/Horticultura) Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP, Botucatu.
- Silva, P. A., Abreu, C. d., Corrêa, A. D., & Asmar, S. A. (2009). Modificações nas atividades da poligalacturonase e pectinametilesterase em morangos armazenados a temperatura ambiente. *Ciência e Agrotecnologia*, 33 (p. 1953-1958).
- Sirijariyawat, A., Charoenrein, S., & Barrett, D. M. (2012). Texture improvement of fresh and frozen mangoes with pectin methylesterase and calcium infusion. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(13) (p. 2581-2586).
- Smelt, J. (1998). Recent advances in the microbiology of high pressure processing. *Trends in Food Science & Technology*, 9(4) (p. 152-158).
- Stewart, C. M., Dunne, C. P., Sikes, A., & Hoover, D. G. (2000). Sensitivity of spores of *Bacillus subtilis* and *Clostridium sporogenes* PA 3679 to combinations of high hydrostatic pressure

- and other processing parameters. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1(1) (p. 49-56).
- Straka, R. P., & Stokes, J. L. (1959). Metabolic injury to bacteria at low temperatures. *Journal of Bacteriology*, 78(2) (p. 181-185).
- Szajdek, A., & Borowska, E. (2008). Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits: a review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 63(4) (p. 147-156).
- Tassou, C. C., Galiatsatou, P., Samaras, F. J., & Mallidis, C. G. (2007). Inactivation kinetics of a piezotolerant *Staphylococcus aureus* isolated from high-pressure-treated sliced ham by high pressure in buffer and in a ham model system: Evaluation in selective and non-selective medium. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(4) (p. 478-484).
- Terefe, N. S., Buckow, R., & Versteeg, C. (2014). Quality-related enzymes in fruit and vegetable products: effects of novel food processing technologies, part 1: high-pressure processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(1) (p. 24-63).
- Terefe, N. S., Matthies, K., Simons, L., & Versteeg, C. (2009). Combined high pressure-mild temperature processing for optimal retention of physical and nutritional quality of strawberries (*Fragaria* × *ananassa*). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(3) (p. 297-307).
- Tewari, G., & Juneja, V. (2007). High-Pressure Processing of Foods. In *Advances in thermal and non-thermal food preservation*, (p. 203-239). United States: Blackwell Publishing.
- Torres, J. A., & Velazquez, G. (2005). Commercial opportunities and research challenges in the high pressure processing of foods. *Journal of Food Engineering*, 67(1) (p. 95-112).
- Van Buren, J. (1991). *Function of pectin in plant tissue structure and firmness*. New York: Academic Press.
- Van Opstal, I., Bagamboula, C. F., Vanmuysen, S. C., Wuytack, E. Y., & Michiels, C. W. (2004). Inactivation of *Bacillus cereus* spores in milk by mild pressure and heat treatments. *International Journal of Food Microbiology*, 92(2) (p. 227-234).
- Watson, E. (2014). FDA: You can't call HPP-treated juice 'fresh'... (But can you call it 'raw'?). [Consult. 12 de Dezembro, 2014]. Disponível em <http://www.foodnavigator-usa.com/Regulation/Suja-Life-raw-juices-in-lawsuit-on-high-pressure-processing-HPP>.
- Watson, E. (2015). Tio Gazpacho cold soup-in-a-bottle CEO: I wanted to stand out not to fit in. [Consult. 6 de Maio, 2015]. Disponível em <http://www.foodnavigator-usa.com/Manufacturers/Tio-Gazpacho-chilled-soup-in-a-bottle-a-new-beverage-category>.
- Yaldagard, M., Mortazavi, S. A., & Tabatabaie, F. (2008). The principles of ultra high pressure technology and its application in food processing/preservation: A review of microbiological and quality aspects. *African Journal of Biotechnology*, 7(16) (p.).
- Yamamoto, E., Ferreira, R., Fernandes, P., Albuquerque, L., & Alves, E. (2011). Função do cálcio na degradação da parede celular vegetal de frutos. *Revista Verde*, 6 (p. 49-55).
- Zabetakis, I., Leclerc, D., & Kajda, P. (2000). The effect of high hydrostatic pressure on the strawberry anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(7) (p. 2749-2754).

9. Anexos

Anexo A

Análise Sensorial a uma bebida de sumo de cereja com vinagre

Nome: _____ Idade: _____

Serão fornecidas 3 amostras de bebida que terá de avaliar individualmente em cada parâmetro (colocar um X no valor da escala pretendido), bem como comentar os aspectos negativos/positivos.

Por favor, preencher frente e verso.

APARÊNCIA/ASPECTO¹

Amostra

701

1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	2	3	4	5	6	7	8	9

971

530

Comentário:

¹ 1-Desgosto extremamente, 2-Desgosto muito, 3-Desgosto moderadamente, 4-Desgosto pouco, 5-Indiferente, 6-Gosto pouco, 7-Gosto moderadamente, 8-Gosto muito, 9-Gosto extremamente

AROMA²

Amostra

701

1	2	3	4	5
1	2	3	4	5
1	2	3	4	5

971

530

Comentário:

² 1-Muito pouco intenso, 2-Pouco intenso, 3-Equilibrado, 4-Intenso, 5- Muito intenso

SABOR³

Amostra

701

1	2	3	4	5	6	7	8	9
---	---	---	---	---	---	---	---	---

971

1	2	3	4	5	6	7	8	9
---	---	---	---	---	---	---	---	---

530

1	2	3	4	5	6	7	8	9
---	---	---	---	---	---	---	---	---

Comentário:

³ 1-Desgosto extremamente, 2-Desgosto muito, 3-Desgosto moderadamente, 4-Desgosto pouco, 5-Indiferente, 6-Gosto pouco, 7-Gosto moderadamente, 8-Gosto muito, 9-Gosto extremamente

ADSTRINGÊNCIA⁴

Amostra

701

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

971

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

530

1	2	3	4	5
---	---	---	---	---

Comentário:

⁴ 1-Ausente, 2-Muito pouco adstringente, 3-Pouco adstringente, 4- Adstringente, 5- Muito adstringente

ACIDEZ⁵

Amostra

701

971

530

1	2	3	4	5
1	2	3	4	5
1	2	3	4	5

Comentário:

⁵ 1-Muito pouco ácido, 2-Pouco ácido, 3-Equilibrado, 4- Ácido, 5- Muito ácido

COR⁶

Amostra

701

971

530

1	2	3	4	5
1	2	3	4	5
1	2	3	4	5

Comentário:

⁶ 1-Muito tênue, 2-Tênue, 3-Equilibrada, 4- Intensa, 5- Muito intensa

APRECIAÇÃO GLOBAL⁷

Amostra

701

971

530

1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	2	3	4	5	6	7	8	9

Comentário:

⁷ 1-Desgosto extremamente, 2-Desgosto muito, 3-Desgosto moderadamente, 4-Desgosto pouco, 5-Indiferente, 6-Gosto pouco, 7-Gosto moderadamente, 8-Gosto muito, 9-Gosto extremamente

INTENÇÃO DE COMPRA

Amostra

701

971

530

Sim	Não
Sim	Não
Sim	Não

Comentário:

Anexo B

B 1: Composição do meio MRD (Liofilchem, Itália)

<i>Componente</i>	<i>Quantidade (g.L⁻¹)</i>
Peptona	1,0
Acetato de sódio	8,5

B 2: Composição do meio PCA (Merck, Alemanha)

<i>Componente</i>	<i>Quantidade (g.L⁻¹)</i>
Tryptona	5,0
Extrato de Levedura	1,0
Glucose	2,5
Agar	15,0

B 3: Composição do meio YGC Agar (Liofilchem, Itália)

<i>Componente</i>	<i>Quantidade (g.L⁻¹)</i>
Cloranfenicol	0,1
Extrato de Levedura	5,0
Glucose	20,0
Agar	18,0

B 4: Composição do meio BPW (Liofilchem, Itália)

<i>Componente</i>	<i>Quantidade (g.L⁻¹)</i>
Tryptona	10,0
Cloreto de Sódio	5,0
Fosfato disódico anidro	3,5
Dihidrogénio fosfato de potássio	1,5

B 5: Composição do meio RCM (Merck, Alemanha)

<i>Componente</i>	<i>Quantidade (g.L⁻¹)</i>
Extrato de Malte	10,0
Peptona	10,0
Extrato de Levedura	3,0
Glucose	5,0
Amido	1,0
Cloreto de Sódio	5,0
Acetato de Sódio	3,0
Cloreto de L-Cisteína	0,5
Agar	12,5

Anexo C

C 1: Parâmetros físico-químicos do estudo 'Microbiologia'

Pressão (Mpa)	Minutos	Cálcio	Sorbato	Dias	pH	SST (°Brix)	aw	Firmeza (N)
0	0	0	0	0	3,24 ± 0,01 aA	45,1 ± 0,1 bB	- -	- -
				3	3,22 ± 0,01 abA	45,3 ± 0,2 dAB	0,917 ± 0,002 aA	1,514 ± 0,875 aB
				15	3,23 ± 0,00 aA	45,6 ± 0,1 fA	0,906 ± 0,003 aB	1,759 ± 0,880 bAB
				30	3,24 ± 0,01 bA	45,4 ± 0,2 gAB	0,905 ± 0,003 aB	3,016 ± 1,893 aA
0	0	1	0	0	3,04 ± 0,01 bA	46,1 ± 0,1 aB	- -	- -
				3	3,03 ± 0,01 cdA	46,4 ± 0,1 abA	0,909 ± 0,002 abA	1,291 ± 1,524 aA
				15	3,04 ± 0,01 dA	46,6 ± 0,1 bcA	0,899 ± 0,001 aB	2,296 ± 1,118 bA
				30	3,02 ± 0,01 gA	46,1 ± 0,1 eB	0,897 ± 0,006 aB	1,797 ± 1,104 aA
0	0	1	1	0	3,22 ± 0,01 aAB	45,9 ± 0,2 aB	- -	- -
				3	3,20 ± 0,01 abA	46,2 ± 0,2 abAB	0,898 ± 0,008 bcA	1,339 ± 1,042 aA
				15	3,21 ± 0,01 bcB	46,6 ± 0,2 bcA	0,898 ± 0,004 aA	2,607 ± 1,456 bA
				30	3,21 ± 0,01 cdAB	46,3 ± 0,1 cdeAB	0,900 ± 0,002 aA	2,115 ± 0,617 aA
450	5	0	0	3	3,24 ± 0,01 aA	45,9 ± 0,4 bcA	0,869 ± 0,003 dC	1,383 ± 0,750 aA
				15	3,22 ± 0,01 abA	46,0 ± 0,2 defA	0,910 ± 0,006 aA	1,766 ± 1,192 bA
				30	3,21 ± 0,01 aC	45,6 ± 0,1 fgA	0,906 ± 0,001 aAB	1,495 ± 0,948 aA
				45	3,22 ± 0,01 abA	45,7 ± 0,1 dA	0,881 ± 0,003 cBC	1,078 ± 0,544 aA
450	5	1	0	60	3,22 ± 0,01 eD	46,0 ± 0,2 cdA	0,868 ± 0,017 bC	1,681 ± 0,870 aA
				3	3,06 ± 0,02 cA	46,3 ± 0,2 abA	0,881 ± 0,003 cdB	1,581 ± 1,381 aB
				15	3,02 ± 0,01 dB	47,1 ± 0,2 aB	0,907 ± 0,004 aA	5,719 ± 3,719 aA
				30	3,06 ± 0,01 fA	46,2 ± 0,1 deA	0,903 ± 0,001 aC	2,633 ± 1,971 aAB
450	5	1	1	45	3,03 ± 0,01 dB	46,3 ± 0,1 cB	0,902 ± 0,004 aA	1,719 ± 0,818 aB
				60	3,02 ± 0,00 eB	46,4 ± 0,7 abcAB	0,864 ± 0,007 cC	2,363 ± 2,558 aB
450	5	1	1	3	3,21 ± 0,01 abAB	46,6 ± 0,2 aB	0,879 ± 0,012 cdD	1,123 ± 0,658 aA
				15	3,21 ± 0,01 bcB	46,8 ± 0,1 abAB	0,923 ± 0,005 aA	3,171 ± 0,709 bA
				30	3,21 ± 0,00 cdAB	46,5 ± 0,0 bcB	0,898 ± 0,001 aBC	1,644 ± 1,564 aA
				45	3,22 ± 0,01 abA	47,0 ± 0,1 aA	0,898 ± 0,006 abB	1,742 ± 1,100 aA
550	5	1	0	60	3,18 ± 0,01 cC	47,0 ± 0,1 aA	0,881 ± 0,003 abcCD	1,336 ± 0,650 aA
				3	3,03 ± 0,01 cdB	46,0 ± 0,1 bC	0,906 ± 0,035 aA	1,670 ± 1,123 aA
				15	3,03 ± 0,00 dB	46,2 ± 0,1 cdC	0,876 ± 0,021 aBC	2,348 ± 1,200 bA
				30	3,03 ± 0,01 eA	46,8 ± 0,1 aA	0,900 ± 0,001 aAB	2,309 ± 1,736 aA
550	5	1	1	45	3,03 ± 0,01 dB	46,3 ± 0,1 cBC	0,886 ± 0,003 bcBC	1,693 ± 1,176 aA
				60	3,09 ± 0,01 dC	46,6 ± 0,3 abcAB	0,869 ± 0,003 bcC	1,439 ± 1,362 aA
550	5	1	1	3	3,21 ± 0,01 abB	46,1 ± 0,3 abB	0,928 ± 0,003 aA	1,691 ± 0,920 aA
				15	3,19 ± 0,01 cB	46,5 ± 0,1 bcAB	0,891 ± 0,027 aAB	1,592 ± 0,704 bA
				30	3,19 ± 0,01 gC	46,4 ± 0,2 bcdeAB	0,897 ± 0,003 aAB	2,428 ± 1,672 aA
				45	3,21 ± 0,01 cB	46,7 ± 0,1 abA	0,884 ± 0,002 bcB	1,486 ± 0,445 aA
550	10	1	0	60	3,23 ± 0,01 bA	46,9 ± 0,2 abA	0,864 ± 0,020 bcB	2,017 ± 2,329 aA
				3	3,02 ± 0,01 dB	46,2 ± 0,1 abAB	0,915 ± 0,009 abA	1,307 ± 0,775 aA
				15	3,02 ± 0,01 dB	46,2 ± 0,1 cdeAB	0,900 ± 0,003 aAB	2,694 ± 2,061 bA
				30	3,03 ± 0,01 gB	46,4 ± 0,2 bcdeA	0,900 ± 0,001 aAB	1,614 ± 0,885 aA
550	10	1	1	45	3,04 ± 0,01 dB	46,3 ± 0,0 cA	0,826 ± 0,006 dC	1,692 ± 1,290 aA
				60	3,09 ± 0,01 bA	45,9 ± 0,0 cdB	0,887 ± 0,007 abcB	1,842 ± 2,272 aA
550	10	1	1	3	3,19 ± 0,01 bB	46,2 ± 0,1 abB	0,927 ± 0,002 aA	1,839 ± 0,877 aA
				15	3,19 ± 0,02 cB	46,4 ± 0,1 bcAB	0,904 ± 0,003 aB	1,225 ± 0,621 bA
				30	3,20 ± 0,00 deB	46,6 ± 0,0 abA	0,896 ± 0,001 aB	1,547 ± 0,853 aA
				45	3,21 ± 0,00 bcB	46,2 ± 0,2 cB	0,819 ± 0,013 dC	1,372 ± 0,781 aA
600	5	0	0	60	3,25 ± 0,01 abA	46,2 ± 0,2 bcdB	0,899 ± 0,003 aB	1,518 ± 0,987 aA
				3	3,19 0,04 bB	45,4 ± 0,1 cdA	0,923 ± 0,007 aA	1,871 ± 1,740 aA
				15	3,21 0,01 bcB	45,8 ± 0,2 efA	0,905 ± 0,005 aB	1,667 ± 0,814 bA
				30	3,22 0,01 bcAB	45,8 ± 0,1 fA	0,913 ± 0,000 aAB	2,252 ± 1,251 aA
600	5	1	0	45	3,23 0,00 aA	45,5 ± 0,1 dA	0,886 ± 0,002 bcC	1,512 ± 1,489 aA
				60	3,27 0,04 aA	45,5 ± 0,3 dA	0,878 ± 0,001 abcC	2,133 ± 1,237 aA
600	5	1	0	3	3,04 0,01 cdB	46,1 ± 0,1 bC	0,921 ± 0,005 aA	1,045 ± 0,379 aA
				15	3,02 0,01 dB	46,5 ± 0,1 bcA	0,891 ± 0,004 aC	1,443 ± 1,176 bA
				30	3,03 0,01 gB	46,4 ± 0,0 bcdeAB	0,908 ± 0,003 aB	1,169 ± 1,290 aA
				45	3,03 0,01 dB	46,3 ± 0,1 cBC	0,883 ± 0,003 bcC	1,306 ± 2,200 aA
100+450	5+5	1	0	60	3,10 0,01 dA	46,2 ± 0,0 bcdBC	0,886 ± 0,004 abcC	2,132 ± 2,726 aA
				3	3,03 ± 0,00 cdB	46,1 ± 0,1 bB	0,920 ± 0,012 aA	1,772 ± 1,139 aA
				15	3,00 ± 0,01 eC	46,4 ± 0,2 bcA	0,896 ± 0,003 aBC	1,709 ± 0,969 bA
				30	3,04 ± 0,01 fgB	46,5 ± 0,1 bcdA	0,910 ± 0,001 aAB	1,120 ± 0,624 aA
100+450	5+5	1	0	45	3,04 ± 0,00 dB	46,5 ± 0,1 bcA	0,818 ± 0,003 dD	1,951 ± 1,211 aA
				60	3,09 ± 0,01 dA	46,1 ± 0,1 bcdB	0,891 ± 0,001 abC	2,514 ± 2,068 aA

C 2: Parâmetros físico-químicos do estudo 'Microbiologia'

Pressão (Mpa)	Minutos	Cálcio	Sorbato	Dias	Cor L*	Cor a*	Cor b*	Cor C*	Cor h°
0	0	0	0	0	24,32 ± 2,75 abA	28,09 ± 2,62 bAB	8,23 ± 2,98 abA	29,35 ± 3,22 bAB	15,93 ± 4,74 abA
				3	22,71 ± 1,49 abA	29,18 ± 3,52 aA	8,63 ± 3,23 aA	30,49 ± 4,26 aA	17,04 ± 5,71 aA
				15	21,59 ± 1,31 abcAB	29,15 ± 2,58 abA	6,72 ± 1,88 abAB	29,94 ± 2,89 abAB	12,79 ± 2,69 abAB
				30	19,02 ± 1,98 abB	24,84 ± 1,58 bcdB	3,43 ± 2,03 bcdB	25,13 ± 1,86 bcdB	7,64 ± 4,00 abcB
0	0	1	0	0	27,76 ± 2,83 aA	33,87 ± 3,18 aA	13,85 ± 4,07 aA	36,67 ± 4,37 aA	21,85 ± 4,35 aA
				3	22,99 ± 3,29 aA	28,15 ± 2,29 abB	8,75 ± 3,34 aAB	29,58 ± 3,04 abB	16,88 ± 5,28 abA
				15	22,76 ± 3,40 aA	30,43 ± 2,68 aAB	10,02 ± 3,08 aAB	32,09 ± 3,47 aAB	17,90 ± 3,89 aA
				30	22,56 ± 4,19 aA	28,98 ± 2,81 aB	7,88 ± 4,01 aB	30,11 ± 3,65 aB	14,69 ± 6,55 aA
0	0	1	1	0	21,43 ± 3,45 bA	26,53 ± 4,27 bA	5,31 ± 4,24 bA	27,23 ± 4,97 bAB	10,37 ± 7,21 bA
				3	20,58 ± 2,13 abcA	27,86 ± 1,37 abcA	6,11 ± 2,13 abA	28,57 ± 1,73 abcA	12,20 ± 3,77 abcA
				15	19,54 ± 1,23 bcA	24,81 ± 1,87 bcA	3,39 ± 1,20 bcA	25,05 ± 1,99 bcdA	7,66 ± 2,32 bA
				30	22,63 ± 2,07 aA	27,29 ± 1,28 abA	6,95 ± 1,23 abA	28,18 ± 1,43 abA	14,24 ± 2,18 aA
450	5	0	0	3	18,90 ± 1,34 cdAB	22,95 ± 1,40 deA	2,13 ± 0,49 cdA	23,55 ± 0,81 deA	5,28 ± 1,05 deA
				15	20,34 ± 0,68 bcA	25,06 ± 1,70 bcA	3,79 ± 1,17 bA	25,35 ± 1,87 bcdA	8,48 ± 1,91 bA
				30	17,93 ± 1,91 bB	23,36 ± 1,76 cdA	2,00 ± 1,69 cdA	23,49 ± 1,91 cdA	4,64 ± 3,69 bcdA
				45	18,92 ± 0,89 bcAB	21,83 ± 3,46 bcA	2,12 ± 2,24 bcdA	22,01 ± 3,62 bA	4,83 ± 5,28 abcA
450	5	1	0	60	20,10 ± 1,25 abAB	25,44 ± 2,42 abA	4,46 ± 1,73 bA	25,86 ± 2,67 abA	9,70 ± 2,88 bA
				3	19,60 ± 0,55 bcdA	25,24 ± 2,48 bcdA	3,70 ± 1,31 bcdA	25,52 ± 2,64 bcdA	8,16 ± 2,16 cdA
				15	17,69 ± 1,93 cAC	20,46 ± 1,78 cB	-0,26 ± 1,18 cBC	20,49 ± 1,77 dB	-0,79 ± 3,36 cA
				30	16,31 ± 1,51 bBC	23,09 ± 2,13 cdABC	0,16 ± 1,91 dB	23,15 ± 2,15 cdAB	0,04 ± 4,63 dA
450	5	1	1	45	16,56 ± 0,95 dBC	19,98 ± 2,94 cC	-0,87 ± 0,74 dC	20,51 ± 2,08 bB	4,21 ± 15,34 bcA
				60	17,95 ± 1,06 abAB	23,86 ± 0,27 abAB	1,42 ± 0,72 dB	23,92 ± 0,28 bA	3,40 ± 1,72 dA
				3	20,00 ± 1,72 aB	24,85 ± 1,79 bcdeAB	3,76 ± 1,60 bcdB	25,16 ± 2,02 cdAB	8,41 ± 2,96 cdB
				15	20,04 ± 1,94 bcB	24,98 ± 2,22 bcAB	3,58 ± 1,71 bcB	25,27 ± 2,43 bcdAB	7,95 ± 3,10 bB
450	5	1	1	30	18,84 ± 2,19 abB	22,96 ± 1,88 cdBC	2,20 ± 1,94 cdBC	23,12 ± 2,10 cdBC	5,19 ± 4,10 bcdBC
				45	17,17 ± 1,54 cdB	21,25 ± 1,57 bcC	0,55 ± 1,77 cdC	21,31 ± 1,64 bC	1,20 ± 4,53 cC
				60	23,12 ± 1,06 aA	26,87 ± 1,01 aA	7,21 ± 0,27 aA	27,81 ± 1,02 aA	15,03 ± 0,54 aA
				3	16,61 ± 0,57 dB	21,57 ± 0,66 eB	0,23 ± 0,46 dB	20,72 ± 2,37 eB	0,59 ± 1,20 eB
550	5	1	0	15	19,79 ± 2,82 bcA	25,22 ± 1,86 bcA	3,74 ± 2,47 bAB	25,44 ± 2,00 bcdA	8,20 ± 4,85 bA
				30	19,94 ± 1,11 abA	25,73 ± 1,43 abcA	4,62 ± 1,57 abcAB	26,16 ± 1,66 abcA	10,02 ± 2,93 abA
				45	18,10 ± 1,08 cdAB	24,62 ± 2,80 abcA	2,97 ± 1,96 bcA	24,85 ± 3,02 abA	6,52 ± 3,65 abcA
				60	18,60 ± 0,58 abAB	23,62 ± 0,59 abAB	2,85 ± 0,62 bcdA	23,80 ± 0,66 bAB	6,84 ± 1,29 bedA
550	5	1	1	3	20,08 ± 2,32 abcA	25,65 ± 2,16 abcdA	4,16 ± 2,24 bcA	26,03 ± 2,48 bcdA	8,88 ± 4,24 cdA
				15	19,67 ± 0,68 bcA	24,58 ± 1,26 bcA	3,56 ± 1,06 bcA	24,85 ± 1,36 bcdA	7,50 ± 2,80 bA
				30	18,93 ± 2,24 abA	23,80 ± 2,53 bcdA	2,97 ± 1,71 cdA	23,93 ± 2,54 cdA	6,94 ± 3,58 bcdA
				45	20,83 ± 1,14 bA	25,16 ± 1,22 abA	4,66 ± 1,09 bA	25,60 ± 1,39 abA	10,39 ± 1,96 abcA
550	10	1	0	60	21,37 ± 1,83 abA	23,51 ± 2,09 bA	4,05 ± 1,77 bcA	23,89 ± 2,34 bA	9,40 ± 3,51 bA
				3	19,18 ± 1,50 cdA	24,42 ± 1,39 cdeA	3,66 ± 1,48 bcdA	24,72 ± 1,60 ceA	8,37 ± 2,89 cdA
				15	19,50 ± 2,79 bcA	26,38 ± 1,37 bA	4,31 ± 2,09 bA	26,74 ± 1,71 abcA	8,37 ± 3,96 bA
				30	20,10 ± 1,54 abA	24,78 ± 1,33 bcdA	4,44 ± 1,64 abcA	25,20 ± 1,53 bcdA	10,04 ± 3,32 abA
550	10	1	1	45	20,83 ± 0,99 bA	24,00 ± 4,12 abcA	4,53 ± 2,47 bA	24,48 ± 4,47 aA	10,17 ± 4,40 abcA
				60	20,72 ± 0,75 abA	24,50 ± 0,37 abA	4,27 ± 0,56 bA	24,87 ± 0,46 abA	9,87 ± 1,14 bA
				3	18,19 ± 1,98 cdA	23,75 ± 1,55 deAB	2,27 ± 2,21 cdA	23,94 ± 1,70 deAB	5,16 ± 5,14 deA
				15	20,70 ± 2,75 bcA	25,32 ± 2,17 bcA	3,96 ± 2,15 bA	25,69 ± 2,46 bcdA	8,58 ± 4,11 bA
550	10	1	1	30	18,81 ± 0,98 abA	23,99 ± 1,15 bcdAB	3,27 ± 1,07 cdA	24,23 ± 1,27 bcdAB	7,68 ± 2,20 abcA
				45	18,32 ± 0,85 cdA	21,41 ± 1,17 bcB	1,44 ± 0,80 bcdA	21,47 ± 1,22 bB	3,78 ± 1,96 cA
				60	16,96 ± 8,02 bA	23,77 ± 2,03 abAB	3,93 ± 1,64 bcA	24,12 ± 2,25 bAB	9,15 ± 3,17 bcA
				3	19,32 ± 0,12 cdAB	22,60 ± 1,17 deA	2,43 ± 0,78 bcdAB	22,73 ± 1,24 deA	6,09 ± 1,61 cdeA
600	5	0	0	15	20,23 ± 1,68 bcA	24,64 ± 3,75 bcA	3,52 ± 1,88 bcA	24,92 ± 3,96 bcdA	7,78 ± 3,03 bA
				30	16,61 ± 0,95 bC	21,90 ± 0,70 dA	0,59 ± 0,88 dB	21,93 ± 0,71 dA	1,49 ± 2,31 cdB
				45	18,43 ± 0,34 cdB	22,44 ± 2,28 bcA	2,32 ± 1,04 bcdAB	22,58 ± 2,31 bA	6,04 ± 2,57 abcA
				60	20,56 ± 0,41 abA	23,29 ± 1,27 bcA	3,44 ± 0,67 bcdAB	23,55 ± 1,35 bcA	8,39 ± 1,13 bcA
600	5	1	0	3	19,16 ± 1,03 cdB	24,12 ± 1,13 deAB	3,41 ± 1,18 bcdB	24,37 ± 1,28 cdeB	7,94 ± 2,36 cdBC
				15	22,32 ± 3,02 abA	24,08 ± 4,11 bcAB	5,38 ± 1,19 bB	24,54 ± 4,32 cdAB	12,16 ± 1,50 abB
				30	19,41 ± 1,35 abB	22,58 ± 2,05 cdB	2,78 ± 0,78 cdB	22,76 ± 2,06 cdB	7,02 ± 1,92 bcdC
				45	23,03 ± 1,45 aA	27,42 ± 1,83 aA	8,35 ± 2,81 aA	28,74 ± 2,54 abA	16,62 ± 4,37 aA
100+450	5+5	1	0	60	21,10 ± 0,29 abAB	25,41 ± 0,13 abAB	4,57 ± 0,71 bB	25,83 ± 0,25 abAB	10,17 ± 1,50 bBC
				3	19,61 ± 1,20 bcdAB	24,84 ± 0,83 bcdeAB	4,48 ± 0,94 bcAB	25,25 ± 0,93 bcdAB	10,18 ± 1,91 bcdA
				15	21,46 ± 3,46 abcA	27,29 ± 2,71 aA	5,51 ± 2,85 bA	27,92 ± 3,19 abcA	10,96 ± 4,86 bA
				30	18,31 ± 1,05 bAB	23,26 ± 1,53 cdBC	2,83 ± 1,14 cdAB	23,35 ± 1,71 cdABC	6,84 ± 2,36 bcdA
100+450	5+5	1	0	45	18,05 ± 1,34 cdB	22,62 ± 0,86 bcC	1,97 ± 1,08 bcdB	21,34 ± 3,59 bBC	7,62 ± 7,75 abcA
				60	18,99 ± 1,69 abAB	20,14 ± 3,47 cC	1,92 ± 1,68 cdB	20,27 ± 3,61 cC	4,87 ± 3,92 cdA

C 3:Carga microbiológica do estudo 'Microbiologia'

Pressão (MPa)	Minutos	Cálcio	Sorbato	Dias	Log(UFC's.g ⁻¹)							
					Mesófilos Aeróbios	Termófilos Aeróbios	Mesófilos Anaeróbios	Termófilos Anaeróbios	Termófilos	Mesófilos	Termófilos	
									Aeróbios Esporulados	Anaeróbios	Aeróbios Esporulados	Anaeróbios Esporulados
0	0	0	0	0	1,50	L.D.			0,40			
				5	1,00	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
				19	1,51		2,39			L.D.		
				33	2,59	L.D.		L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
0	0	1	0	0	1,78	0,40			0,40			
				5	1,30	0,40	1,00	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
				19	1,65		1,48			L.D.		
				33	1,00	L.D.		L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
0	0	1	1	0	1,10	1,10			0,40			
				5	1,30	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
				19	1,00		1,00			L.D.		
				33	0,88	0,40	L.D.	L.D.	0,40	L.D.	L.D.	
450	5	0	0	5	1,24	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
				19	1,18		0,70			L.D.		
				33	1,10	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
				46	1,10		L.D.			L.D.		
450	5	1	0	56	L.D.	L.D.	1,00	L.D.	0,40	L.D.	L.D.	
				3	1,00	L.D.	1,00	L.D.	L.D.	0,70	L.D.	
				15	1,44		L.D.			L.D.		
				29	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
450	5	1	1	40	0,40		L.D.			L.D.		
				56	1,18	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
				5	0,88	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
				19	1,63		1,00			L.D.		
450	5	1	0	33	0,40	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
				46	0,70		L.D.			L.D.		
				56	0,88	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
				59	0,70	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
550	5	1	0	3	1,24	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
				17	0,70		L.D.			L.D.		
				31	1,00	0,88	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
				45	0,88		L.D.			L.D.		
550	5	1	1	59	0,70	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
				3	1,10	0,40	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
				17	1,10		L.D.			L.D.		
				31	1,10	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
550	10	1	0	45	0,88		L.D.			L.D.		
				59	0,70	L.D.	1,40	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
				3	1,35	L.D.	L.D.	L.D.	0,40	L.D.	L.D.	
				17	1,30		L.D.			L.D.		
550	10	1	1	31	1,76	L.D.	1,40	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
				45	1,10		L.D.			L.D.		
				59	1,54	L.D.	1,18	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
				3	1,81	L.D.	L.D.	L.D.	0,40	L.D.	L.D.	
550	10	1	0	17	1,10		L.D.			L.D.		
				31	2,17	L.D.	1,30	L.D.	L.D.	1,60	L.D.	
				45	1,00		L.D.			L.D.		
				59	0,40	L.D.	0,70	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
600	5	0	0	3	1,40	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
				17	1,65		L.D.			L.D.		
				31	1,18	0,40	L.D.	L.D.	L.D.	0,70	L.D.	
				45	L.D.		L.D.			L.D.		
600	5	1	0	59	0,70	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
				3	1,18	L.D.	0,70	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
				17	0,70		L.D.			L.D.		
				31	1,18	0,40	0,70	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
100+450	5+5	1	0	45	1,10		0,70			L.D.		
				59	0,70		L.D.			L.D.		
				3	1,35	0,70	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
				17	1,10		0,70			L.D.		
100+450	5+5	1	0	31	1,24	L.D.	0,70	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	
				45	0,70		L.D.			L.D.		
				59	0,88	L.D.	1,00	L.D.	L.D.	0,70	L.D.	
				3	1,35	0,70	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	

C 4: Parâmetros físico-químicos do estudo 'Dias de Infusão'

Pressão (Mpa)	Minutos	Cálcio	Sorbato	Dias	pH	SST (°Brix)	aw
450	5	0	0	3	3,24 ± 0,01 aA	45,9 ± 0,4 bA	0,869 ± 0,003 cC
				15	3,22 ± 0,01 aA	46,0 ± 0,2 dA	0,910 ± 0,006 abA
				30	3,21 ± 0,01 aC	45,6 ± 0,1 fA	0,906 ± 0,001 aAB
				45	3,22 ± 0,01 aA	45,7 ± 0,1 dA	0,881 ± 0,003 cBC
				60	3,22 ± 0,01 eD	46,0 ± 0,2 aA	0,868 ± 0,017 bC
450 10CH	5	0	0	3	3,24 ± 0,01 aA	45,8 ± 0,1 abB	0,888 ± 0,008 bcAB
				15	3,21 ± 0,00 abB	46,1 ± 0,2 cdAB	0,887 ± 0,005 abAB
				30	3,22 ± 0,01 bAB	46,0 ± 0,1 eAB	0,898 ± 0,002 abA
				45	3,21 ± 0,02 abB	45,8 ± 0,1 dB	0,887 ± 0,006 abcAB
				60	3,22 ± 0,01 aA	46,4 ± 0,3 aA	0,876 ± 0,005 abcB
450	5	1	0	3	3,06 ± 0,02 cA	46,3 ± 0,2 abA	0,881 ± 0,003 bcB
				15	3,02 ± 0,01 cB	47,1 ± 0,2 aB	0,907 ± 0,004 abA
				30	3,06 ± 0,01 fA	46,2 ± 0,1 dA	0,903 ± 0,001 aA
				45	3,03 ± 0,01 cB	46,3 ± 0,1 bcB	0,902 ± 0,004 aA
				60	3,02 ± 0,00 dB	46,4 ± 0,7 aAB	0,864 ± 0,007 bcC
450 10CH	5	1	0	3	3,04 ± 0,02 cA	45,8 ± 0,4 aB	0,899 ± 0,011 bA
				15	3,03 ± 0,01 cA	46,9 ± 0,4 abA	0,880 ± 0,031 bA
				30	3,03 ± 0,01 eA	46,4 ± 0,1 cdAB	0,904 ± 0,008 aA
				45	2,98 ± 0,02 dB	46,3 ± 0,1 bcAB	0,877 ± 0,003 cA
				60	3,03 ± 0,00 dA	46,9 ± 0,2 aA	0,870 ± 0,003 abcA
450	5	1	1	3	3,21 ± 0,01 abB	46,6 ± 0,2 aB	0,879 ± 0,012 bcD
				15	3,21 ± 0,01 bAB	46,8 ± 0,1 abAB	0,923 ± 0,005 aA
				30	3,21 ± 0,00 bc	46,5 ± 0,0 bcB	0,898 ± 0,001 abBC
				45	3,22 ± 0,01 a	47,0 ± 0,1 aA	0,898 ± 0,006 abB
				60	3,18 ± 0,01 b	47,0 ± 0,1 aA	0,881 ± 0,003 abcCD
450 10CH	5	1	1	3	3,17 ± 0,04 bA	46,1 ± 0,4 abB	0,932 ± 0,012 aA
				15	3,20 ± 0,01 bA	46,9 ± 0,1 abA	0,893 ± 0,001 abB
				30	3,19 ± 0,00 cdA	46,6 ± 0,0 bAB	0,889 ± 0,008 bB
				45	3,19 ± 0,00 bA	46,6 ± 0,2 bAB	0,879 ± 0,003 cB
				60	3,19 ± 0,02 bA	46,6 ± 0,3 aA	0,897 ± 0,020 aB
550	5	1	0	3	3,03 ± 0,01 c	46,0 ± 0,1 abC	0,906 ± 0,035 aA
				15	3,03 ± 0,00 c	46,2 ± 0,1 cdC	0,876 ± 0,021 bBC
				30	3,03 ± 0,01 d	46,8 ± 0,1 aA	0,900 ± 0,001 abAB
				45	3,03 ± 0,01 c	46,3 ± 0,1 bcBC	0,886 ± 0,003 bBC
				60	3,09 ± 0,01 c	46,6 ± 0,3 aAB	0,869 ± 0,003 abcC
550 10CH	5	1	0	3	3,05 ± 0,02 cA	46,8 ± 1,0 abA	0,882 ± 0,001 bcBC
				15	3,02 ± 0,01 cB	46,6 ± 0,1 bcA	0,899 ± 0,003 abA
				30	3,04 ± 0,01 cAB	46,3 ± 0,1 dA	0,895 ± 0,004 abAB
				45	3,03 ± 0,01 cAB	46,2 ± 0,1 cA	0,876 ± 0,011 cC
				60	3,03 ± 0,00 dAB	46,5 ± 0,1 aA	0,889 ± 0,004 abABC

C 5: Parâmetros físico-químicos do estudo 'Dias de Infusão'

Pressão (Mpa)	Minutos	Cálcio	Sorbato	Dias	Cor L*	Cor a*	Cor b*	Cor C*	Cor h°
450	5	0	0	3	18,90 ± 1,34 bcAB	22,95 ± 1,40 bcA	2,13 ± 0,49 bcA	23,55 ± 0,81 abC	5,28 ± 1,05 bA
				15	20,34 ± 0,68 abA	25,06 ± 1,70 aA	3,79 ± 1,17 abA	25,35 ± 1,87 aA	8,48 ± 1,91 abA
				30	17,93 ± 1,91 abB	23,36 ± 1,76 abA	2,00 ± 1,69 abA	23,49 ± 1,91 abAB	4,64 ± 3,69 abA
				45	18,92 ± 0,89 aAB	21,83 ± 3,46 aA	2,12 ± 2,24 abA	22,01 ± 3,62 abC	4,83 ± 5,28 aA
				60	20,10 ± 1,25 abAB	25,44 ± 2,42 abA	4,46 ± 1,73 bA	25,86 ± 2,67 abC	9,70 ± 2,88 aA
450 10CH	5	0	0	3	21,08 ± 1,59 aA	24,97 ± 1,59 abA	4,33 ± 1,36 abA	25,36 ± 1,79 aA	9,70 ± 2,46 abA
				15	19,34 ± 2,29 abAB	24,20 ± 1,66 aAB	2,90 ± 2,28 abcAB	24,45 ± 1,93 abAB	6,57 ± 4,75 abcAB
				30	17,10 ± 1,55 abB	21,74 ± 1,28 abBC	1,15 ± 1,31 abB	21,80 ± 1,31 abBC	2,95 ± 3,35 abB
				45	19,35 ± 1,65 aAB	21,26 ± 1,41 aC	2,09 ± 0,61 abAB	21,29 ± 1,33 aC	5,61 ± 1,61 aAB
				60	18,20 ± 1,17 bB	22,62 ± 1,51 bcABC	2,33 ± 1,60 bcAB	22,77 ± 1,71 bcABC	5,69 ± 3,35 bcAB
450	5	1	0	3	19,60 ± 0,55 abcA	25,24 ± 2,48 abA	3,70 ± 1,31 abA	25,52 ± 2,64 aA	8,16 ± 2,16 abA
				15	17,69 ± 1,93 abAC	20,46 ± 1,78 bBC	-0,26 ± 1,18 cBC	20,49 ± 1,77 bB	-0,79 ± 3,36 cA
				30	16,31 ± 1,51 bBC	23,09 ± 2,13 abABC	0,16 ± 1,91 bBC	23,15 ± 2,15 abAB	0,04 ± 4,63 bA
				45	16,56 ± 0,95 aBC	19,98 ± 2,94 aC	-0,87 ± 0,74 cC	20,51 ± 2,08 aAB	4,21 ± 15,34 aA
				60	17,95 ± 1,06 bAB	23,86 ± 0,27 abcAB	1,42 ± 0,72 cB	23,92 ± 0,28 abcA	3,40 ± 1,72 cA
450 10CH	5	1	0	3	18,13 ± 0,96 cdA	24,01 ± 1,38 abcA	2,47 ± 1,48 bcA	24,16 ± 1,50 aA	5,70 ± 3,26 bA
				15	17,16 ± 1,71 bA	23,67 ± 1,73 abA	0,98 ± 1,66 bcA	23,74 ± 1,80 abA	2,13 ± 3,85 bcA
				30	18,81 ± 2,94 abA	20,40 ± 4,38 bA	1,13 ± 3,38 abA	20,62 ± 4,64 bA	1,79 ± 8,03 bA
				45	18,40 ± 2,19 aA	21,38 ± 2,76 aA	1,51 ± 0,31 abcA	20,43 ± 4,53 aA	4,01 ± 0,52 aA
				60	15,56 ± 6,55 aA	23,41 ± 1,05 abA	3,22 ± 1,51 bcA	23,66 ± 1,20 bcA	7,70 ± 3,40 bcA
450	5	1	1	3	20,00 ± 1,72 abcB	24,85 ± 1,79 abAB	3,76 ± 1,60 abB	25,16 ± 2,02 aAB	8,41 ± 2,96 abB
				15	20,04 ± 1,94 abB	24,98 ± 2,22 aAB	3,58 ± 1,71 abB	25,27 ± 2,43 aABC	7,95 ± 3,10 abB
				30	18,84 ± 2,19 abB	22,96 ± 1,88 abBC	2,20 ± 1,94 abBC	23,12 ± 2,10 abBC	5,19 ± 4,10 abBC
				45	17,17 ± 1,54 aB	21,25 ± 1,57 aC	0,55 ± 1,77 bcC	21,31 ± 1,64 aC	1,20 ± 4,53 aC
				60	23,12 ± 1,06 aA	26,87 ± 1,01 aA	7,21 ± 0,27 aA	27,81 ± 1,02 aA	15,03 ± 0,54 aA
450 10CH	5	1	1	3	20,32 ± 0,73 abA	23,16 ± 1,51 bcA	3,03 ± 1,26 bA	23,38 ± 1,65 abA	7,30 ± 2,66 abA
				15	19,00 ± 3,12 abA	23,37 ± 2,24 abA	2,38 ± 2,87 abcA	23,61 ± 2,58 abA	5,27 ± 6,09 abcA
				30	18,66 ± 1,17 abA	22,77 ± 1,63 abA	2,52 ± 1,32 abA	23,17 ± 1,54 abA	6,60 ± 2,39 abA
				45	18,30 ± 1,49 aA	21,87 ± 1,92 aA	1,65 ± 1,71 abA	21,48 ± 3,17 aA	4,01 ± 4,23 aA
				60	19,28 ± 1,78 abA	22,36 ± 2,68 cA	2,40 ± 1,93 bcA	22,49 ± 3,04 cA	5,77 ± 4,26 bcA
550	5	1	0	3	16,61 ± 0,57 dB	21,57 ± 0,66 cB	0,23 ± 0,46 cB	20,72 ± 2,37 bB	0,59 ± 1,20 cB
				15	19,79 ± 2,82 abA	25,22 ± 1,86 aA	3,74 ± 2,47 abAB	25,44 ± 2,00 aA	8,20 ± 4,85 abA
				30	19,94 ± 1,11 aA	25,73 ± 1,43 aA	4,62 ± 1,57 aAB	26,16 ± 1,66 aA	10,02 ± 2,93 aA
				45	18,10 ± 1,08 aAB	24,62 ± 2,80 aA	2,97 ± 1,96 abA	24,85 ± 3,02 aA	6,52 ± 3,65 aA
				60	18,60 ± 0,58 abAB	23,62 ± 0,59 abcAB	2,85 ± 0,62 bcA	23,80 ± 0,66 bcAB	6,84 ± 1,29 bcA
550 10CH	5	1	0	3	20,58 ± 1,20 abA	26,10 ± 0,62 aA	5,40 ± 1,25 aA	26,68 ± 0,86 aA	11,63 ± 2,38 aA
				15	21,22 ± 1,16 aA	24,50 ± 2,71 aAB	5,04 ± 1,51 aA	24,61 ± 3,24 abA	11,40 ± 2,45 aA
				30	19,40 ± 1,72 abA	22,47 ± 2,26 abB	2,47 ± 1,76 abA	22,64 ± 2,41 abA	5,93 ± 4,04 abA
				45	19,97 ± 3,64 aA	24,60 ± 2,60 aAB	4,18 ± 3,58 aA	25,60 ± 3,47 aA	8,72 ± 6,97 aA
				60	19,90 ± 0,75 abA	24,83 ± 0,38 abAB	4,52 ± 0,65 aA	25,13 ± 0,40 abA	10,30 ± 1,36 abA

C 6: Carga microbiológica do estudo 'Dias de Infusão'

					Log(UFC's.g ⁻¹)						
Pressão (MPa)	Minutos	Cálcio	Sorbato	Dias	Mesófilos Aeróbios	Termófilos Aeróbilos	Mesófilos Anaeróbios	Termófilos Anaeróbios	Termófilos Aeróbios Esporulados	Mesófilos Anaeróbios Esporulados	Termófilos Anaeróbios Esporulado
450	5	0	0	5	1,24	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				19	1,18		0,70			L.D.	
				33	1,10	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				46	1,10		L.D.			L.D.	
				56	L.D.	L.D.	1,00	L.D.	0,40	L.D.	L.D.
450 10CH	5	0	0	4	0,70	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				15	1,35		L.D.			L.D.	
				29	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				40	0,40		L.D.			L.D.	
				56	1,10	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
450	5	1	0	3	1,00	L.D.	1,00	L.D.	L.D.	0,70	L.D.
				15	1,44		L.D.			L.D.	
				29	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				40	0,40		L.D.			L.D.	
				56	1,18	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
450 10CH	5	1	0	4	1,48	L.D.	0,70	L.D.	L.D.	0,70	L.D.
				15	1,44		L.D.			L.D.	
				29	0,40	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				40	0,40		L.D.			L.D.	
				56	1,00	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
450	5	1	0	3	1,00	L.D.	1,00	L.D.	L.D.	0,70	L.D.
				15	1,44		L.D.			L.D.	
				29	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				40	0,40		L.D.			L.D.	
				56	1,18	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
450 10CH	5	1	1	4	1,10	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	5,00
				15	1,54		L.D.			L.D.	
				29	0,70	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				40	1,18		L.D.			L.D.	
				56	0,40	L.D.	1,00	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
550	5	1	0	3	1,24	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				17	0,70		L.D.			L.D.	
				31	1,00	0,88	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				45	0,88		L.D.			L.D.	
				59	0,70	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
550 10CH	5	1	0	4	1,44	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				15	1,00		L.D.			L.D.	
				29	L.D.	0,40	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				40	0,40		L.D.			L.D.	
				56	0,70	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.

C 7: Parâmetros físico-químicos do estudo 'Cálcio'

Pressão (Mpa)	Minutos	Cálcio	Sorbato	Dias	pH	SST (°Brix)	aw
450	5	0	0	3	3,24 ± 0,01 aA	45,9 ± 0,4 abA	0,869 ± 0,003 bC
				15	3,22 ± 0,01 aA	46,0 ± 0,2 cA	0,910 ± 0,006 aA
				30	3,21 ± 0,01 aC	45,6 ± 0,1 cA	0,906 ± 0,001 bcAB
				45	3,22 ± 0,01 aA	45,7 ± 0,1 bA	0,881 ± 0,003 bBC
				60	3,22 ± 0,01 cD	46,0 ± 0,2 aA	0,868 ± 0,017 aC
450	5	1	0	3	3,06 ± 0,02 bA	46,3 ± 0,2 aAB	0,881 ± 0,003 bB
				15	3,02 ± 0,01 cB	47,1 ± 0,2 aB	0,907 ± 0,004 aA
				30	3,06 ± 0,01 dA	46,2 ± 0,1 dA	0,903 ± 0,001 cA
				45	3,03 ± 0,01 bB	46,3 ± 0,1 aB	0,902 ± 0,004 aA
				60	3,02 ± 0,00 cB	46,4 ± 0,7 aAB	0,864 ± 0,007 aC
600	5	0	0	3	3,19 ± 0,04 aB	45,4 ± 0,1 bA	0,923 ± 0,007 aA
				15	3,21 ± 0,01 bB	45,8 ± 0,2 cA	0,905 ± 0,005 abB
				30	3,22 ± 0,01 bAB	45,8 ± 0,1 bA	0,913 ± 0,000 aAB
				45	3,23 ± 0,00 aA	45,5 ± 0,1 cA	0,886 ± 0,002 bC
				60	3,27 ± 0,04 aA	45,5 ± 0,3 aA	0,878 ± 0,001 aC
600	5	1	0	3	3,04 ± 0,01 bB	46,1 ± 0,1 aC	0,921 ± 0,005 aA
				15	3,02 ± 0,01 cB	46,5 ± 0,1 bA	0,891 ± 0,004 bC
				30	3,03 ± 0,01 cB	46,4 ± 0,0 aAB	0,908 ± 0,003 bB
				45	3,03 ± 0,01 bB	46,3 ± 0,1 aBC	0,883 ± 0,003 bC
				60	3,10 ± 0,01 bA	46,2 ± 0,0 aBC	0,886 ± 0,004 aC

C 8: Parâmetros físico-químicos do estudo 'Cálcio'

Pressão (Mpa)	Minutos	Cálcio	Sorbato	Dias	Cor L*	Cor a*	Cor b*	Cor C*	Cor h°
450	5	0	0	3	18,90 ± 1,34 aAB	22,95 ± 1,40 aA	2,13 ± 0,49 aA	23,55 ± 0,81 abA	5,28 ± 1,05 aA
				15	20,34 ± 0,68 abA	25,06 ± 1,70 aA	3,79 ± 1,17 aA	25,35 ± 1,87 aA	8,48 ± 1,91 abA
				30	17,93 ± 1,91 abB	23,36 ± 1,76 aA	2,00 ± 1,69 abA	23,49 ± 1,91 aA	4,64 ± 3,69 abA
				45	18,92 ± 0,89 bAB	21,83 ± 3,46 bA	2,12 ± 2,24 bcA	22,01 ± 3,62 bA	4,83 ± 5,28 aA
				60	20,10 ± 1,25 aAB	25,44 ± 2,42 aA	4,46 ± 1,73 aA	25,86 ± 2,67 aA	9,70 ± 2,88 aA
450	5	1	0	3	19,60 ± 0,55 aA	25,24 ± 2,48 aA	3,70 ± 1,31 aA	25,52 ± 2,64 aA	8,16 ± 2,16 aA
				15	17,69 ± 1,93 bAC	20,46 ± 1,78 aBC	-0,26 ± 1,18 bBC	20,49 ± 1,77 aB	-0,79 ± 3,36 cA
				30	16,31 ± 1,51 bBC	23,09 ± 2,13 aABC	0,16 ± 1,91 bBC	23,15 ± 2,15 aAB	0,04 ± 4,63 bA
				45	16,56 ± 0,95 cBC	19,98 ± 2,94 bC	-0,87 ± 0,74 cC	20,51 ± 2,08 bB	4,21 ± 15,34 aA
				60	17,95 ± 1,06 bAB	23,86 ± 0,27 aAB	1,42 ± 0,72 bB	23,92 ± 0,28 aA	3,40 ± 1,72 bA
600	5	0	0	3	19,32 ± 0,12 aAB	22,60 ± 1,17 aA	2,43 ± 0,78 aAB	22,73 ± 1,24 bA	6,09 ± 1,61 aA
				15	20,23 ± 1,68 abA	24,64 ± 3,75 aA	3,52 ± 1,88 aA	24,92 ± 3,96 aA	7,78 ± 3,03 bA
				30	16,61 ± 0,95 bC	21,90 ± 0,70 aA	0,59 ± 0,88 abB	21,93 ± 0,71 aA	1,49 ± 2,31 bB
				45	18,43 ± 0,34 bB	22,44 ± 2,28 bA	2,32 ± 1,04 bAB	22,58 ± 2,31 bA	6,04 ± 2,57 aA
				60	20,56 ± 0,41 aA	23,29 ± 1,27 aA	3,44 ± 0,67 abA	23,55 ± 1,35 aA	8,39 ± 1,13 aA
600	5	1	0	3	19,16 ± 1,03 aB	24,12 ± 1,13 aAB	3,41 ± 1,18 aB	24,37 ± 1,28 abB	7,94 ± 2,36 aBC
				15	22,32 ± 3,02 aA	24,08 ± 4,11 aAB	5,38 ± 1,19 aB	24,54 ± 4,32 aAB	12,16 ± 1,50 aB
				30	19,41 ± 1,35 aB	22,58 ± 2,05 aB	2,78 ± 0,78 aB	22,76 ± 2,06 aB	7,02 ± 1,92 aC
				45	23,03 ± 1,45 aA	27,42 ± 1,83 aA	8,35 ± 2,81 aA	28,74 ± 2,54 aA	16,62 ± 4,37 aA
				60	21,10 ± 0,29 aAB	25,41 ± 0,13 aAB	4,57 ± 0,71 aB	25,83 ± 0,25 aAB	10,17 ± 1,50 aBC

C 9: Carga microbiológica do estudo 'Cálcio'

Pressão (MPa)	Minutos	Cálcio	Sorbato	Dias	Log(UFC's.g ⁻¹)						
					Mesófilos Aeróbios	Termófilos Aeróbios	Mesófilos Anaeróbios	Termófilos Anaeróbios	Termófilos Aeróbios	Mesófilos Anaeróbios	Termófilos Anaeróbios
									Esporulados	Esporulados	Esporulados
450	5	0	0	5	1,24	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				19	1,18		0,70			L.D.	
				33	1,10	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				46	1,10		L.D.			L.D.	
				56	L.D.	L.D.	1,00	L.D.	0,40	L.D.	L.D.
450	5	1	0	3	1,00	L.D.	1,00	L.D.	L.D.	0,70	L.D.
				15	1,44		L.D.			L.D.	
				29	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				40	0,40		L.D.			L.D.	
				56	1,18	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
600	5	0	0	3	1,40	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				17	1,65		L.D.			L.D.	
				31	1,18	0,40	L.D.	L.D.	L.D.	0,70	L.D.
				45	L.D.		L.D.			L.D.	
				59	0,70	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
600	5	1	0	3	1,18	L.D.	0,70	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				17	0,70		L.D.			L.D.	
				31	1,18	0,40	0,70	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				45	1,10		0,70			L.D.	
				59	L.D.	L.D.	1,00	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.

C 10: Parâmetros físico-químicos das amostras sob congelamento

Pressão (Mpa)	Minutos	Cálcio	Sorbato	Dias	Armazenamento	pH	°Brix	aw
0	0	0	0	30	Refrigeração	3,24 ± 0,01 A	45,4 ± 0,2 A	0,905 ± 0,003 A
				30	Congelação	3,22 ± 0,01 AB	45,4 ± 0,2 A	0,908 ± 0,002 A
				120	Congelação	3,21 ± 0,01 B	45,2 ± 0,1 A	0,880 ± 0,012 B
0	0	1	0	30	Refrigeração	3,02 ± 0,01 A	46,1 ± 0,1 B	0,897 ± 0,006 A
				30	Congelação	3,02 ± 0,01 A	46,5 ± 0,1 A	0,903 ± 0,004 A
				120	Congelação	3,03 ± 0,01 A	46,1 ± 0,1 B	0,850 ± 0,005 B
0	0	1	1	30	Refrigeração	3,21 ± 0,01 A	46,3 ± 0,1 A	0,900 ± 0,002 A
				30	Congelação	3,19 ± 0,00 B	46,4 ± 0,2 A	0,905 ± 0,003 A
				120	Congelação	3,19 ± 0,01 B	46,2 ± 0,1 A	0,850 ± 0,002 A
450	5	0	0	30	Refrigeração	3,21 ± 0,01 A	45,6 ± 0,1 A	0,906 ± 0,001 A
				30	Congelação	3,21 ± 0,01 B	45,5 ± 0,3 A	0,904 ± 0,004 B
				120	Congelação	3,21 ± 0,00 B	45,3 ± 0,3 A	0,889 ± 0,011 C
450	5	1	0	30	Refrigeração	3,06 ± 0,01 A	46,2 ± 0,1 A	0,903 ± 0,001 A
				30	Congelação	3,02 ± 0,01 B	46,1 ± 0,1 A	0,898 ± 0,002 B
				120	Congelação	3,04 ± 0,01 B	46,1 ± 0,1 A	0,893 ± 0,003 C
550	5	1	0	30	Refrigeração	3,03 ± 0,01 A	46,8 ± 0,1 A	0,900 ± 0,001 AB
				30	Congelação	3,03 ± 0,01 B	46,2 ± 0,1 B	0,902 ± 0,003 A
				120	Congelação	3,03 ± 0,01 B	46,2 ± 0,2 B	0,893 ± 0,005 B

C 11: Parâmetros físico-químicos das amostras sob congelamento

Pressão (Mpa)	Minutos	Cálcio	Sorbato	Dias	Armazenamento	Cor L*	Cor a*	Cor b*	Cor C*	Cor h°
0	0	0	0	30	Refrigeração	19,02 ± 1,98 A	24,84 ± 1,58 B	3,43 ± 2,03 B	25,13 ± 1,86 B	7,64 ± 4,00 B
				30	Congelação	19,04 ± 1,45 B	25,73 ± 2,30 B	4,60 ± 2,98 B	25,87 ± 2,24 B	9,07 ± 4,32 B
				120	Congelação	22,61 ± 1,31 A	28,79 ± 1,38 A	10,30 ± 1,90 A	30,63 ± 1,13 A	19,70 ± 3,83 A
0	0	1	0	30	Refrigeração	22,56 ± 4,19 A	28,98 ± 2,81 A	7,88 ± 4,01 B	30,11 ± 3,65 AB	14,69 ± 6,55 AB
				30	Congelação	19,62 ± 2,24 A	27,48 ± 3,57 A	5,67 ± 3,90 B	28,36 ± 4,61 B	10,90 ± 5,86 B
				120	Congelação	23,50 ± 1,57 A	31,66 ± 0,50 A	13,00 ± 1,85 A	34,25 ± 1,16 A	22,25 ± 2,55 A
0	0	1	1	30	Refrigeração	22,63 ± 2,07 AB	27,29 ± 1,28 AB	6,95 ± 1,23 B	28,18 ± 1,43 B	14,24 ± 2,18 B
				30	Congelação	20,35 ± 0,98 A	24,22 ± 3,09 B	4,22 ± 2,42 B	24,65 ± 3,47 B	9,49 ± 4,11 B
				120	Congelação	25,01 ± 4,80 B	31,58 ± 4,10 A	12,66 ± 4,53 A	34,11 ± 5,47 A	21,22 ± 4,62 A
450	5	0	0	30	Refrigeração	17,93 ± 1,91 B	23,36 ± 1,76 A	2,00 ± 1,69 B	23,49 ± 1,91 A	4,64 ± 3,69 B
				30	Congelação	17,11 ± 0,30 B	23,43 ± 0,84 A	1,61 ± 0,47 B	23,49 ± 0,87 A	3,90 ± 1,04 B
				120	Congelação	21,51 ± 1,54 A	24,71 ± 2,00 A	7,46 ± 2,11 A	25,84 ± 2,55 A	16,57 ± 2,94 A
450	5	1	0	30	Refrigeração	16,31 ± 1,51 B	23,09 ± 2,13 AB	0,16 ± 1,91 B	23,15 ± 2,15 AB	0,04 ± 4,63 B
				30	Congelação	17,51 ± 1,34 B	21,92 ± 1,50 B	0,55 ± 0,33 B	21,93 ± 1,50 B	1,42 ± 0,77 B
				120	Congelação	20,30 ± 1,77 A	25,31 ± 2,37 A	6,41 ± 1,61 A	26,13 ± 2,62 A	14,04 ± 2,65 A
550	5	1	0	30	Refrigeração	19,94 ± 1,11 AB	25,73 ± 1,43 A	4,62 ± 1,57 AB	26,16 ± 1,66 A	10,02 ± 2,93 B
				30	Congelação	18,00 ± 2,03 B	23,20 ± 1,78 A	2,27 ± 2,40 B	23,40 ± 1,93 A	5,22 ± 5,73 B
				120	Congelação	23,80 ± 4,87 A	21,28 ± 6,10 A	6,28 ± 1,55 A	22,19 ± 6,29 A	16,60 ± 0,90 A

C 12: Carga microbiológica das amostras sob congelamento

Pressão (MPa)	Minutos	Cálcio	Sorbato	Dias	Armazenamento	Log(UFC's.g ⁻¹)						
						Mesófilos	Termófilos	Mesófilos	Termófilos	Termófilos	Mesófilos	Termófilos
						Aeróbios	Aeróbios	Anaeróbios	Anaeróbios	Esporulados	Esporulados	Esporulados
0	0	0	0	33	refrigeração	2,59	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				29	congelamento	0,70	L.D.	2,42	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				120	congelamento	1,35	0,40	1,18	L.D.	0,70	L.D.	L.D.
0	0	1	0	33	refrigeração	1,00	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				29	congelamento	1,35	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				120	congelamento	1,40	1,24	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
0	0	1	1	33	refrigeração	0,88	0,40	L.D.	L.D.	0,40	L.D.	L.D.
				29	congelamento	1,48	0,40	L.D.	L.D.	L.D.	0,70	L.D.
				120	congelamento	1,00	1,10	0,70	L.D.	L.D.	0,70	L.D.
450	5	0	0	33	refrigeração	1,10	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				30	congelamento	1,10	L.D.	0,70	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				120	congelamento	1,10	L.D.	0,70	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
450	5	1	0	29	refrigeração	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				29	congelamento	1,18	0,40	L.D.	L.D.	0,40	L.D.	L.D.
				120	congelamento	1,00	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
550	5	1	0	31	refrigeração	1,00	0,88	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				29	congelamento	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
				120	congelamento	1,18	0,40	0,70	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.

Anexo D

D 1: Parâmetros físico-químicos do 2º ensaio realizado

Pressão (Mpa)	Minutos	Cálcio	Sorbato	Dias	pH	SST (°Brix)	aw
0	0	1	0	0	2,96 ± 0,01 bA	44,9 ± 0,1 bA	0,897 ± 0,007 aBC
				15	2,94 ± 0,01 bA	45,0 ± 0,1 bA	0,886 ± 0,002 aC
				30	2,91 ± 0,01 cB	44,9 ± 0,0 A	0,901 ± 0,003 aB
				40	2,89 ± 0,01 bB	44,9 ± 0,1 bA	0,917 ± 0,003 aA
				50	2,90 ± 0,02 cB	44,9 ± 0,1 bA	0,902 ± 0,006 aB
0	0	1	1	0	3,14 ± 0,01 aA	45,2 ± 0,1 bB	0,883 ± 0,007 bB
				15	3,14 ± 0,01 aA	45,3 ± 0,0 bAB	0,894 ± 0,008 aAB
				30	3,08 ± 0,00 bB	45,4 ± 0,0 A	0,893 ± 0,003 abAB
				40	3,08 ± 0,01 aB	45,3 ± 0,1 aAB	0,906 ± 0,006 abAB
				50	3,13 ± 0,01 aA	45,2 ± 0,1 aB	0,897 ± 0,005 abAB
450	5	1	0	3	2,93 ± 0,01 bA	45,1 ± 0,0 bA	0,885 ± 0,002 bB
				15	2,94 ± 0,01 bA	45,0 ± 0,1 bB	0,895 ± 0,007 aAB
				30	2,90 ± 0,00 cB	45,1 ± 0,0 A	0,888 ± 0,001 bB
				40	2,90 ± 0,01 bB	44,9 ± 0,1 bB	0,909 ± 0,009 abAB
				50	2,94 ± 0,00 bA	44,9 ± 0,1 bB	0,894 ± 0,002 abAB
				60	2,88 ± 0,03 bB	44,8 ± 0,0 bC	0,890 ± 0,006 aB
				90	2,91 ± 0,01 bAB	45,0 ± 0,1 bB	0,895 ± 0,010 aAB
450	5	1	1	3	3,12 ± 0,00 aB	45,8 ± 0,1 abA	0,891 ± 0,003 abAB
				15	3,14 ± 0,01 aA	45,3 ± 0,1 bCD	0,891 ± 0,001 aAB
				30	3,10 ± 0,00 aCD	45,2 ± 0,0 DE	0,882 ± 0,008 bAB
				40	3,09 ± 0,00 aD	45,3 ± 0,1 aBC	0,897 ± 0,010 bA
				50	3,14 ± 0,00 aA	45,3 ± 0,0 aBCD	0,888 ± 0,003 bAB
				60	3,09 ± 0,01 aCD	45,1 ± 0,0 bE	0,891 ± 0,011 aAB
				90	3,11 ± 0,01 aBC	45,4 ± 0,0 aB	0,877 ± 0,006 aB
450	5	1	1	3	3,11 ± 0,02 aA	47,0 ± 1,1 aA	0,889 ± 0,000 abA
				15	3,13 ± 0,01 aA	48,0 ± 0,6 bcA	0,883 ± 0,012 aAB
				30	3,10 ± 0,01 aA	47,8 ± 0,0 bA	0,868 ± 0,004 cB
				60	3,07 ± 0,01 aB	47,2 ± 0,2 bA	0,889 ± 0,006 aA

D 2: Parâmetros físico-químicos do 2º ensaio realizado

Pressão (Mpa)	Minutos	Cálcio	Sorbato	Dias	Cor L*	Cor a*	Cor b*	Cor C*	Cor h°				
0	0	1	0	0	16,92 ± 1,56 bABC	24,93 ± 2,15 bABC	4,63 ± 2,05 bABC	25,41 ± 2,46 bAB	10,25 ± 3,82 bcAB				
				15	14,60 ± 1,55 cC	23,57 ± 2,04 cC	1,95 ± 2,15 cC	23,72 ± 2,22 bB	4,38 ± 4,70 bB				
				30	16,07 ± 0,64 bBC	27,99 ± 1,43 bBC	4,88 ± 1,17 bBC	28,43 ± 1,61 bAB	9,80 ± 1,84 bA				
				40	17,98 ± 1,82 bcAB	27,23 ± 1,24 bcAB	6,13 ± 1,64 bcAB	27,94 ± 1,57 aA	12,57 ± 2,72 aA				
				50	19,11 ± 1,40 bABC	27,48 ± 1,09 bA	6,56 ± 0,67 bA	28,26 ± 1,20 aA	13,40 ± 0,88 aA				
0	0	1	1	0	20,39 ± 1,39 aA	28,32 ± 1,77 aA	9,13 ± 1,48 aA	29,77 ± 2,07 aA	17,78 ± 1,96 aA				
				15	21,86 ± 4,63 aA	27,79 ± 3,69 aA	9,76 ± 5,06 aA	29,63 ± 5,11 aA	18,38 ± 7,09 aA				
				30	24,98 ± 4,70 aA	31,80 ± 3,34 aA	12,43 ± 3,17 aA	34,18 ± 4,28 aA	21,07 ± 2,76 aA				
				40	21,80 ± 1,31 aA	29,72 ± 2,27 aA	10,67 ± 2,36 aA	31,61 ± 2,90 aA	19,55 ± 2,83 aA				
				50	23,60 ± 1,30 aA	29,92 ± 1,27 aA	11,96 ± 1,18 aA	32,23 ± 1,62 aA	21,75 ± 1,11 aA				
450	5	1	0	3	18,68 ± 2,71 abA	25,64 ± 0,79 abA	5,23 ± 2,07 abA	26,23 ± 1,12 bcA	11,39 ± 4,21 bA				
				15	14,38 ± 1,43 cC	20,94 ± 1,83 cC	0,99 ± 1,80 cC	21,02 ± 1,94 bB	2,41 ± 4,48 bB				
				30	18,72 ± 1,88 bA	22,72 ± 1,39 bA	4,16 ± 1,55 bA	23,13 ± 1,62 cAB	10,20 ± 3,28 cAB				
				40	15,74 ± 2,20 cABC	21,95 ± 2,37 cABC	2,30 ± 1,90 cABC	22,12 ± 2,56 bAB	5,58 ± 4,27 bAB				
				50	18,07 ± 1,95 bABC	19,66 ± 4,13 bABC	2,68 ± 1,82 bABC	19,88 ± 4,33 bBC	7,31 ± 3,46 bBC				
				60	16,96 ± 2,66 abAB	17,46 ± 0,87 abAB	1,17 ± 0,63 abAB	17,51 ± 0,83 cC	3,88 ± 2,31 cC				
450	5	1	1	90	14,78 ± 0,73 bBC	19,81 ± 1,95 bBC	1,30 ± 0,98 bBC	19,87 ± 2,00 aBC	3,55 ± 2,50 aBC				
				3	18,41 ± 1,85 abAB	21,79 ± 1,99 abAB	2,77 ± 1,96 abAB	22,03 ± 2,21 dAB	6,87 ± 4,44 dAB				
				15	18,82 ± 1,54 abAB	23,57 ± 2,26 abAB	5,18 ± 1,86 abAB	24,17 ± 2,55 bA	12,18 ± 3,45 bA				
				30	17,03 ± 2,60 bAB	22,22 ± 1,75 bAB	3,59 ± 1,83 bAB	22,55 ± 2,00 cAB	8,89 ± 4,01 cAB				
				40	19,55 ± 1,40 abAB	23,18 ± 0,82 abAB	4,75 ± 0,59 abAB	23,66 ± 0,92 bAB	11,54 ± 1,02 bAB				
				50	19,49 ± 1,75 bAB	21,99 ± 1,49 bAB	4,77 ± 0,38 bAB	22,50 ± 1,52 bAB	12,25 ± 0,68 bAB				
450	5	1	1	60	20,26 ± 1,48 aA	22,15 ± 1,62 aA	5,61 ± 0,25 aA	22,85 ± 1,58 aAB	14,27 ± 1,07 aAB				
				90	16,84 ± 1,82 aB	20,04 ± 2,59 aB	3,11 ± 1,78 aB	20,31 ± 2,85 aBC	8,49 ± 3,59 aBC				
				3	16,79 ± 1,34 bA	22,77 ± 1,06 bA	2,77 ± 1,02 bA	22,95 ± 1,14 edA	6,85 ± 2,35 cdA				
				15	16,21 ± 1,02 bcA	19,71 ± 2,21 bCA	1,64 ± 1,62 bcA	19,82 ± 2,34 bB	4,37 ± 4,02 bB				
				Xarope Frio				30	17,58 ± 0,89 bA	21,14 ± 1,13 bA	2,70 ± 0,58 bA	21,32 ± 1,18 cAB	7,23 ± 1,30 cAB
				60	16,90 ± 0,78 bA	16,90 ± 0,78 bA	19,90 ± 0,49 bA	2,29 ± 0,33 bB	6,56 ± 0,76 bB				

Anexo E

E 1: Parâmetros físico-químicos do teste de adição de metabissulfito de sódio

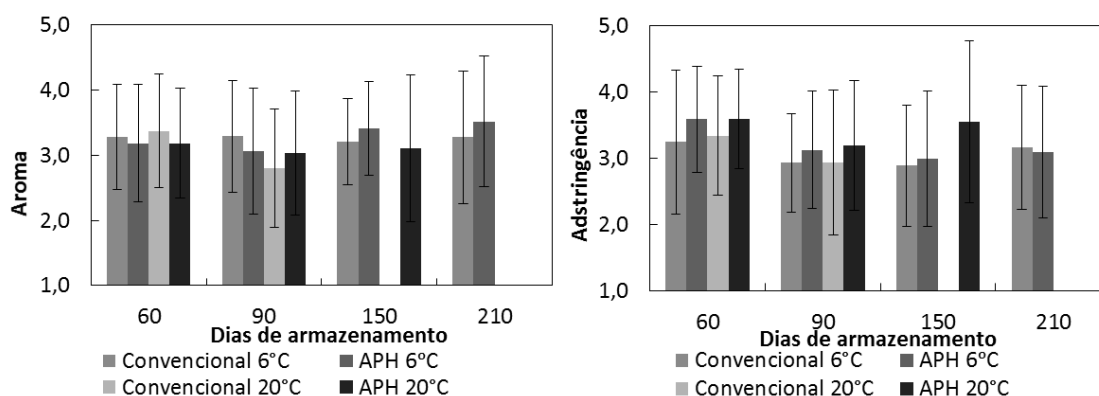
Processamento	Temperatura	Amostra	Dias	pH	SST (°Brix)	Cor L*	Cor a*	Cor b*	Cor C*	Cor h°
Convencional	30 °C	Controlo	0	3,28 ± 0,00	10,1 ± 0,0	8,39 ± 0,06	17,44 ± 0,48	-4,86 ± 0,10	18,11 ± 0,44	344,42 ± 0,67
			60	3,32 ± 0,01	10,1 ± 0,0	7,40 ± 0,03	12,21 ± 0,44	-3,29 ± 4,03	13,17 ± 0,40	337,96 ± 0,93
Convencional	30 °C	E223	0	3,29 ± 0,00	10,2 ± 0,0	8,54 ± 0,11	19,13 ± 0,70	-4,35 ± 0,20	19,62 ± 0,64	347,17 ± 1,01
			60	3,32 ± 0,01	10,1 ± 0,0	7,63 ± 0,15	14,00 ± 0,81	-4,73 ± 0,16	14,78 ± 0,73	341,29 ± 1,54

E 2: Parâmetros físico-químicos da bebida de vinagre de cereja

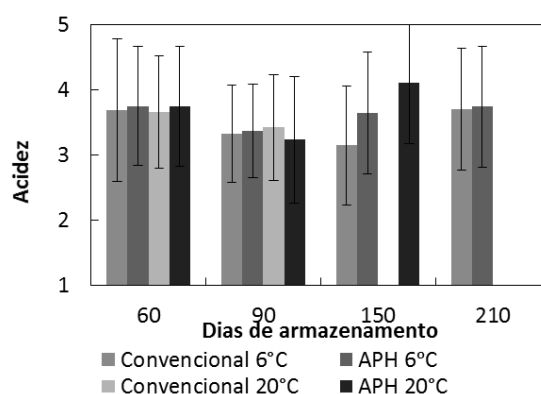
Processamento	Temperatura	Dias	pH	SST (°Brix)	Acidez titulável (g ácido acético.100g ⁻¹)	Cor L*	Cor b*	Cor h°						
Convencional	6 °C	15	3,35 ± 0,01	aA	11,9 ± 0,0	aBC	B	9,90 ± 0,22	aAB	-6,54 ± 0,22	aA	339,03 ± 1,46	aE	
		30	3,29 ± 0,02	bDE	11,9 ± 0,0	aB	0,83 ± 0,01	aA	10,17 ± 0,35	aA	-6,25 ± 0,08	aB	340,71 ± 0,31	aCD
		60	3,32 ± 0,01	aABC	12,0 ± 0,0	aA	0,83 ± 0,00	aA	9,70 ± 0,03	aB	-6,03 ± 0,09	bB	342,06 ± 0,50	aBC
		90	3,30 ± 0,01	aCDE	11,9 ± 0,0	aBC	0,82 ± 0,01	abAB	9,68 ± 0,12	abB	-6,25 ± 0,17	bB	339,53 ± 1,20	bDE
		120	3,33 ± 0,04	abAB	12,0 ± 0,1	aAB	0,82 ± 0,01	aAB	9,56 ± 0,02	aBC	-4,76 ± 0,08	dC	344,67 ± 0,38	aA
		150	3,28 ± 0,01	aE	12,0 ± 0,0	A	0,83 ± 0,01	bA	9,22 ± 0,05	aCD	-4,47 ± 0,12	bCD	344,95 ± 0,61	bA
		180	3,27 ± 0,01	bE	11,9 ± 0,0	BC	0,83 ± 0,00	bAB	9,06 ± 0,36	aDE	-4,41 ± 0,27	bD	342,53 ± 1,80	bB
		210	3,32 ± 0,01	aBCD	11,9 ± 0,1	aC	0,83 ± 0,00	AB	8,73 ± 0,15	aE	-4,37 ± 0,10	aD	341,55 ± 0,69	bBC
APH	6 °C	15	3,32 ± 0,02	bB	10,9 ± 0,1	bB	0,81 ± 0,01	C	9,90 ± 0,07	aA	-6,18 ± 0,18	bAB	340,98 ± 1,68	aE
		30	3,31 ± 0,01	aB	10,9 ± 0,0	cB	0,82 ± 0,01	aB	10,00 ± 0,07	aA	-6,28 ± 0,08	aA	341,10 ± 0,29	aE
		60	3,31 ± 0,00	aBC	10,9 ± 0,1	bAB	0,84 ± 0,00	aA	9,67 ± 0,06	aB	-5,89 ± 0,12	bC	343,21 ± 0,42	aCD
		90	3,30 ± 0,01	aBCD	10,9 ± 0,0	bB	0,83 ± 0,00	aAB	9,55 ± 0,12	bBC	-6,03 ± 0,19	bBC	341,65 ± 1,28	aDE
		120	3,37 ± 0,05	aA	10,9 ± 0,0	bB	0,83 ± 0,00	aAB	9,45 ± 0,02	abC	-4,93 ± 0,06	cD	344,67 ± 0,44	aABC
		150	3,27 ± 0,00	bCD	11,0 ± 0,0	A	0,84 ± 0,00	aA	9,05 ± 0,07	bD	-4,33 ± 0,03	cE	346,16 ± 0,31	aA
		180	3,27 ± 0,01	bD	10,9 ± 0,0	B	0,84 ± 0,00	aAB	8,61 ± 0,09	bE	-4,34 ± 0,16	bE	345,01 ± 1,03	aAB
		210	3,32 ± 0,01	aB	10,9 ± 0,1	bB	0,84 ± 0,00	AB	8,35 ± 0,03	bF	-4,30 ± 0,07	aE	343,36 ± 0,73	aBC
Convencional	20 °C	15	3,34 ± 0,01	abA	11,9 ± 0,0	aB	0,82 ± 0,01	A	10,0 ± 0,1	aB	-6,35 ± 0,3	abA	339,7 ± 1,66	aA
		30	3,31 ± 0,01	aB	12,0 ± 0,0	bA	0,82 ± 0,00	aA	10,2 ± 0,1	A	-6,28 ± 0,1	aAB	339,7 ± 0,26	cA
		60	3,31 ± 0,00	aB	12,0 ± 0,0	aA	0,82 ± 0,01	aA	10,2 ± 1,0	aC	-6,02 ± 0,3	bB	339,3 ± 0,90	bB
		90	3,31 ± 0,01	aB	11,9 ± 0,1	aB	0,80 ± 0,01	bA	9,8 ± 0,1	aC	-6,57 ± 0,1	aA	334,6 ± 0,24	dC
		120	3,34 ± 0,02	abA	10,9 ± 0,1	bB	0,82 ± 0,00	aA	9,4 ± 0,1	bD	-5,39 ± 0,1	bC	336,2 ± 0,48	dD
APH	20 °C	15	3,32 ± 0,02	bA	10,9 ± 0,1	bC	0,81 ± 0,01	A	9,90 ± 0,07	aA	-6,18 ± 0,18	bB	340,98 ± 1,68	aA
		30	3,32 ± 0,01	aAB	10,9 ± 0,0	cC	0,81 ± 0,04	aA	10,05 ± 0,11	aA	-6,36 ± 0,13	aB	340,66 ± 0,74	abA
		60	3,32 ± 0,01	aAB	10,9 ± 0,0	bC	0,90 ± 0,11	aA	9,65 ± 0,48	aB	-6,40 ± 0,25	aB	338,91 ± 1,60	bB
		90	3,30 ± 0,01	aBC	10,9 ± 0,0	bC	0,82 ± 0,00	aA	9,29 ± 0,13	cB	-6,78 ± 0,14	aA	335,25 ± 0,90	cB
		120	3,30 ± 0,02	bBC	11,0 ± 0,0	cB	0,83 ± 0,01	aA	9,01 ± 0,12	cC	-5,82 ± 0,07	aC	336,83 ± 0,28	cC
		150	3,28 ± 0,01	aC	11,1 ± 0,0	A	0,84 ± 0,00	aA	8,63 ± 0,07	cD	-5,34 ± 0,04	aD	335,41 ± 0,19	cD
		180	3,29 ± 0,00	aC	11,0 ± 0,0	B	0,84 ± 0,01	abA	8,26 ± 0,04	cE	-4,73 ± 0,08	aE	334,35 ± 0,61	cE

E 3: Resultados estatísticos das coordenadas a* e C* da bebida de vinagre de cereja

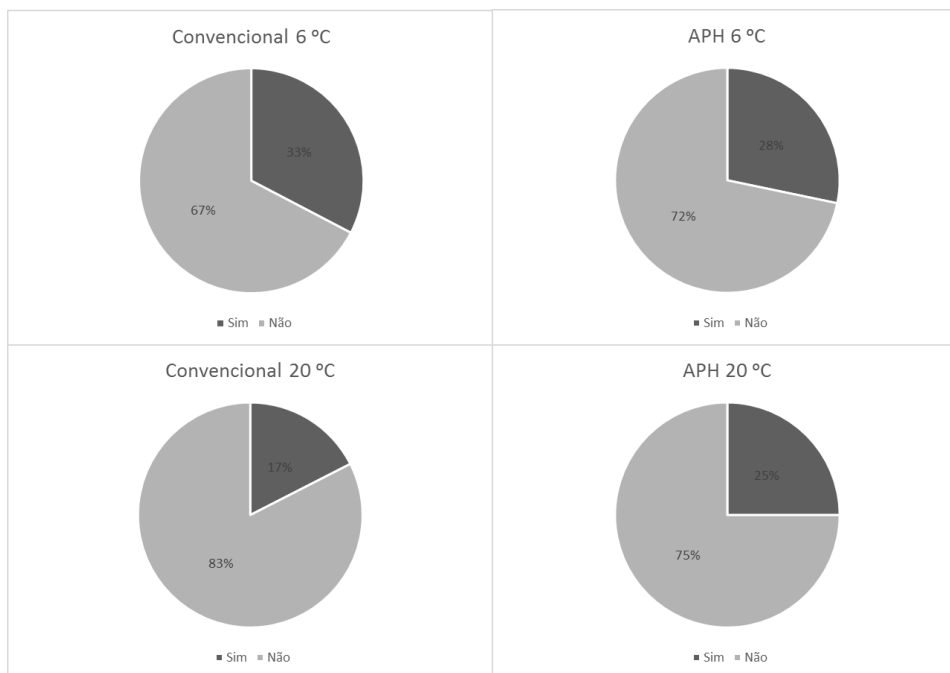
Processamento	Temperatura	Parâmetro	Dias								
			0 (Pré-mix)	15	30	60	90	120	150	180	210
Convencional	6 °C	Cor a*	A	aC	bAB	aA	bC	bBC	bC	bD	bE
		Cor C*	A	aC	bB	aAB	bC	bC	bD	bE	bF
APH	6 °C	Cor a*	A	aA	aA	aA	aAB	aAB	aAB	aB	aC
		Cor C*	AB	aCD	aBC	aA	aBC	aCD	aD	aE	aF
Convencional	20 °C	Cor a*	A	aB	cB	bC	cD	dE	-	-	-
		Cor C*	A	aB	cB	bC	dD	dE	-	-	-
APH	20 °C	Cor a*	A	aB	abAb	abC	cD	cE	cF	cG	-
		Cor C*	A	aA	abA	bB	cB	cC	cD	cE	-



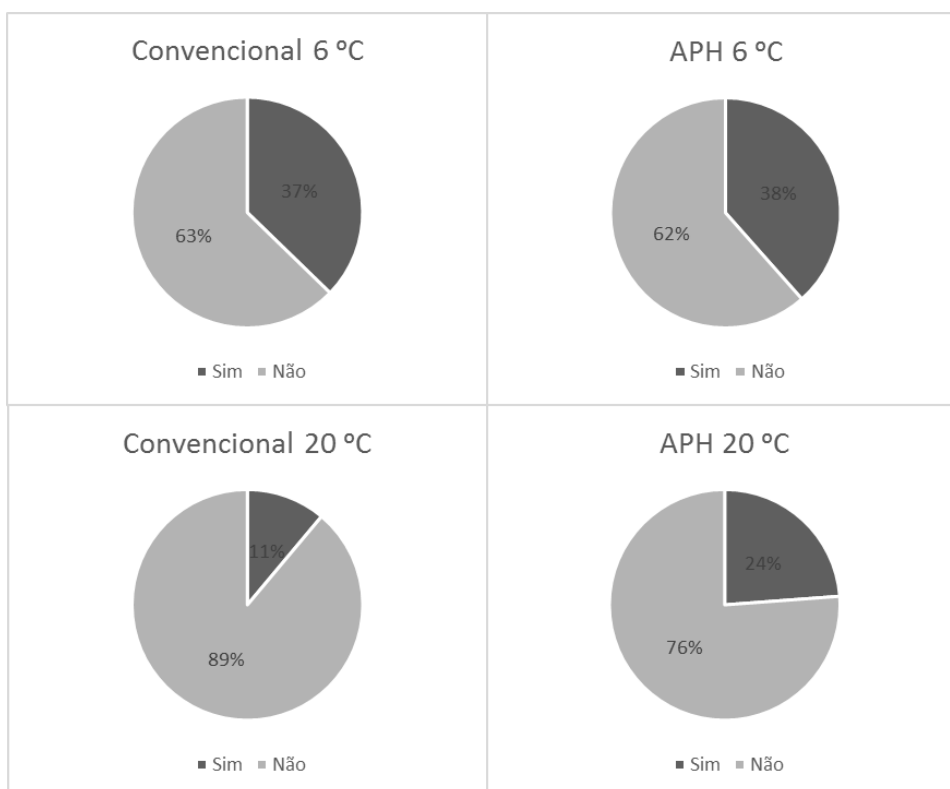
E 4: Resultados da análise sensorial à bebida de vinagre de cereja (para os parâmetros Aroma e Adstringência). Não se verificaram diferenças estatísticas $p > 0,05$.



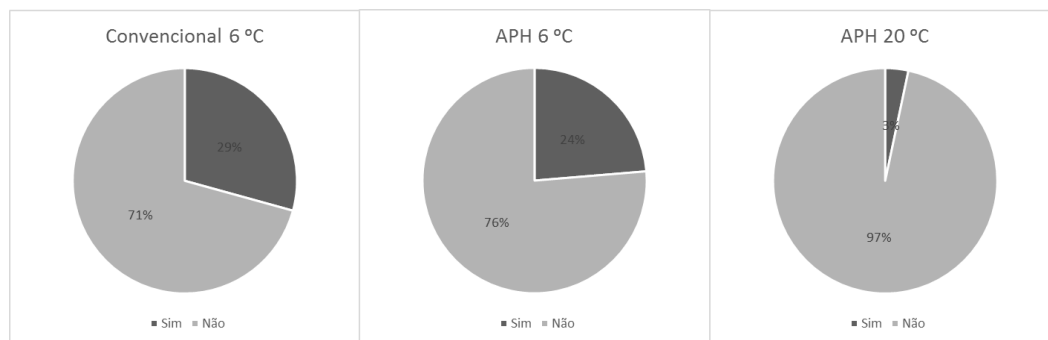
E 5: Resultados da análise sensorial à bebida de vinagre de cereja (para o parâmetro Acidez). Não se verificaram diferenças estatísticas $p > 0,05$.



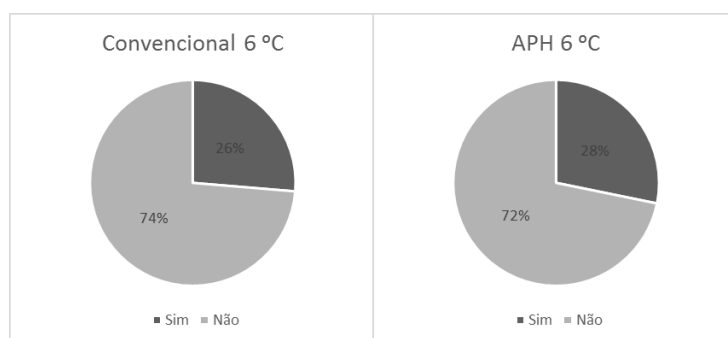
E 6: Intenção de compra aos 60 dias



E 7: Intenção de compra aos 90 dias



E 8: Intenção de compra aos 150 dias



E 9: Intenção de compra aos 210 dias

Anexo F

F 1: Especificações dos produtos pela Frulact

Produto	pH	SST (°Brix)
produto com pedaços de morango	3,30 ± 0,2	46,0 ± 2,0
bebida de vinagre de cereja	3,20 ± 0,2	10,0 ± 0,5

F 2: Carga microbiológica dos pedaços de morango de cada ensaio realizado

Ensaio	Log(UFC's.g ⁻¹)									
	Mesófilos Totais	Bolores e Leveduras	Mesófilos Aeróbios	Termófilos Aeróbios	Mesófilos Anaeróbios	Termófilos Anaeróbios	Mesófilos Aeróbios	Termófilos Aeróbios	Mesófilos Anaeróbios	Termófilos Anaeróbios
							Esporulados	Esporulados	Esporulados	Esporulados
1º	27,50	7,50	30,00	L.D.	10,00	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.	L.D.
2º	130,00	1,67	45,00	18,33	L.D.	L.D.	41,67	1,67	6,67	L.D.